FRESENIUS'
ZEITSCHRIFT FÜR ANALYTISCHE CHEMIE

BEGRÜNDET VON REMIGIUS FRESENIUS

HERAUSGEGEBEN VON

W. FRESENIUS UND A. KURTENACKER

150. BAND
ZWEITES HEFT
MIT 22 ABBILDUNGEN IM TEXT

SPRINGER-VERLAG BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
J. F. BERGMANN · MÜNCHEN
1956

Z.anal. Chem.

Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie

Begründet 1862 und herausgegeben bis Band 20 (1881) von *C. Remigius Fresenius*, bis Band 36 (1897) von *C. Remigius* und *Heinrich Fresenius*, Band 37—58 herausgegeben von *Heinrich* und *Wilhelm Fresenius* und *Ernst Hinz*, Band 59 (1920) bis Band 105 von *Wilhelm Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 105 (1936) von *Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 106—127 (1944) von *Remigius Fresenius*, Band 128 (1948) herausgegeben von *A. Kurtenacker* und ab Band 129 (1949) von *W. Fresenius* und *A. Kurtenacker*. Bis Band 59 (1919) Wiesbaden, C. W. Kreidel, Band 59—62 (1922) Wiesbaden, C. W. Kreidel, und München, J. F. Bergmann, Band 53—127 (1944) München, J. Bergmann, ab Band 128 (1948) München, Bergmann und Berlin, Springer.

Die **„Zeitschrift für analytische Chemie"** erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials in Heften, die zu Bänden vereinigt werden. Der Preis des Bandes beträgt DM 54,—. Sie bringt als „Originalabhandlungen" selbständige Untersuchungen aus allen Gebieten der analytischen Chemie.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskripts und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Der „Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie" enthält, zum Teil in Form von Sammelberichten, kritische Referate über die auf den einzelnen Gebieten an anderer Stelle veröffentlichten Arbeiten über analytische Chemie.

Originalarbeiten und alle sie betreffenden Zuschriften sind zu richten an die

Redaktion der Zeitschrift für analytische Chemie,
Wiesbaden, Kapellenstraße 11/15.

Für Originalabhandlungen wird ein Unkostenersatz von DM 32,— je Druckbogen, jedoch nicht mehr als 1½ Druckbogen für einen Beitrag vergütet.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke.

Auf möglichst rasche Veröffentlichung der eingelaufenen Arbeiten wird besonderer Wert gelegt.

Springer-Verlag
Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 24
Fernsprecher 27901
Berlin W 35, Reichpietschufer 20
Fernsprecher 249251

J. F. Bergmann
München 27, Trogerstraße 56
Fernsprecher 405 35

Band 150 — **Inhaltsverzeichnis** — Heft 2

Originalabhandlungen — Seite

Siebert, H., und **S. Rapoport,** Über emissionssteigernde Effekte in der Flammenphotometrie. Mit 6 Textabbildungen 81

Oehme, F., Registrierende Hochfrequenzpapierchromatographie. Mit 8 Textabbildungen 93

Koczy, F., und **H. Titze,** Eine rasche Präzisionsbestimmung von Kalk in kleinen Sedimentmengen. Mit 3 Textabbildungen 100

Petzold, A., Notizen zur Cerimetrie. III. Bemerkungen zur cerimetrischen Mikrobestimmung von Antimon nach der Methode von Rathsburg. Mit 1 Textabbildung 111

Nielsch, W., Zur Extraktion und Bestimmung kleinster Mengen Nickeldimethylglyoxim mit Chloroform. Anwendung des Verfahrens zur Bestimmung von Nickel in Kupfersalzen. Mit 1 Textabbildung 114

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Warenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Aus dem Physiologisch-chemischen Institut der Humboldt-Universität, Berlin
(Direktor: Prof. Dr. S. Rapoport)

Über emissionssteigernde Effekte in der Flammenphotometrie

Von
H. Siebert und S. Rapoport

Mit 6 Textabbildungen

(Eingegangen am 22. Oktober 1955)

Seitdem die Flammenphotometrie 1929 von Lundegardh[11] in die mineralogische und 1940 von Belke u. Dierkesmann[1] in die biologische und medizinische Methodik als quantitative Methode aufgenommen wurde, stellt die Ablenkung der Werte durch die Gegenwart anderer Substanzen ein viel diskutiertes Problem dar. Natrium, Kalium und Calcium werden in der Flamme zur Emission angeregt und beeinflussen sich gegenseitig. Für die Na-Analyse spielt diese Ablenkung keine Rolle, da Na in biologischen Flüssigkeiten in großem Überschuß gegenüber K und Ca vorhanden ist. Bei Kalium- und Calciumbestimmungen jedoch sind die Abweichungen vom Eichwert zum Teil erheblich. Sie werden in verschiedener Weise bei der Durchführung der Analysen berücksichtigt. Ältere Methoden, die mit Fehlerbreiten von 3—4% arbeiten, vernachlässigen sie [7, 14]. In neueren Arbeiten wird empfohlen, sie durch Anlage von Parameterkurven[1, 2], durch Eichkurven, die mit Gemischen mittlerer physiologischer Konzentrationen angefertigt wurden[4, 5, 6, 8] oder durch Zugaben des „Störelementes" im Überschuß[3, 16] zu kompensieren.

In einer früheren Arbeit haben wir unsere Untersuchungen über die Beeinflussung der Kaliumanalyse im Serum durch Natrium mitgeteilt. Dabei fanden wir in der Acetylen-Luftflamme, daß diese „zusätzliche Anregung" Gesetzmäßigkeiten aufweist, die ihre Auswertung für die Verfeinerung der Methodik möglich machen[16].

Die Ausschläge, die man abliest, wenn man eine gleichbleibende K-Konzentration unter Zugabe steigender Na-Mengen mit dem K-Filter und dem für K optimalen Gasgemisch untersucht, ergeben eine Kurve, die nicht linear, sondern treppenförmig ansteigt. Innerhalb dieser Kurve ist ein Abschnitt zu erkennen, in dem der Wert trotz weiterer Na-Zugabe konstant bleibt. Der Ausschlag ist dabei doppelt so hoch wie bei der Na-freien Kontrollösung. Eine weitere Steigerung erzielt man durch gleichzeitige Methanolzusätze. Es wurde eine Methode zur Bestimmung von K in einer Serumverdünnung von 1 : 50 ausgearbeitet, die sich diesen Effekt

zu Nutze macht. Das Serum wird mit einer Na-Methanollösung verdünnt, die zusammen mit dem Serumnatrium eine Na-Endkonzentration im Bereich der „Ebene" hervorbringt. Die Eichkurve wird mit einer dieser Endkonzentration entsprechenden Na-Zugabe angelegt. Neben dieser praktischen Anwendung werfen jedoch schon die Vergleiche des Na- und Ca-Einflusses, noch vielmehr die quantitativ ganz unterschiedliche Wirkung des Methanols auf die drei Elemente die Frage nach dem Mechanismus der „gegenseitigen Ionenbeeinflussung" auf.

Eine endgültige Klärung dieser Frage, die eng verknüpft ist mit der nach den Vorgängen in der Flamme überhaupt, werden erst detaillierte physikalische Untersuchungen ergeben können. Wir haben jedoch versucht, sie mit den in der Flammenphotometrie möglichen Beobachtungen noch etwas weiter zu verfolgen.

Wir haben uns dabei folgende Fragen gestellt:

1. Bestätigt sich die mit dem Farbglasfilter gefundene „Ebene" bei Untersuchungen mit einem Interferenzfilter oder ist sie durch unzulängliche Selektion des Filters bedingt?

2. Bestehen Unterschiede im Ausmaß der gegenseitigen Beeinflussung der Elemente, wenn ihre gegenseitigen Konzentrationsverhältnisse variiert werden?

3. Gibt es weitere organische Substanzen, die ausschlagssteigernd wirken? Erlaubt ihre systematische Untersuchung Schlüsse auf den Mechanismus dieser Wirkung? (Hierbei wurden im Hinblick auf die Anwendbarkeit der Ergebnisse für Bestimmungen in biologischem Material im wesentlichen Stoffe herangezogen, die gut mit Wasser mischbar sind.)

4. Wie verhalten sich Viscosität und Oberflächenspannung der untersuchten Gemische? Stehen sie in einem gesetzmäßigen Verhältnis zur ausschlagssteigernden Wirkung?

5. Ergeben die Untersuchungen Anhaltspunkte dafür, daß eine echte Emissionsbeeinflussung stattfindet?

Versuchsanordnung

Es wurde wieder mit dem Flammenphotometer Modell III vom VEB Carl Zeiss JENA gearbeitet. Zur Anregung wurde für jedes der drei untersuchten Elemente Natrium, Kalium und Calcium ein bei unserer Apparatur optimales Acetylen-Luftgemisch festgelegt. Gleiche Flammenbedingungen für alle drei Analysen halten wir nicht für zweckmäßig, da dabei entweder Ca nicht optimal angeregt wird, oder bei der K- und Na-Bestimmung die sehr große Zerstäubungsgeschwindigkeit in Kauf genommen werden muß, die mit dem zur Ca-Anregung notwendigen hohen Preßluftdruck verbunden ist.

Tab. 1 gibt die Gasgemische und die Charakteristiken der Filter an. Als Grundkonzentration der Elemente, deren Beeinflussung untersucht wurde, wählten wir für K und Ca die einer Serumverdünnung von 1 : 50 entsprechende Konzentration von 0,1 mÄqu/l, für Na die in einer Verdünnung 1 : 500 erwartete von 0,286 mÄqu/l.

Tabelle 1. *Anregungsbedingungen und Filtercharakteristiken*

Element	Preßluft kp/cm²	Acetylen mm Ölsäule	Bezeichn. d. Filter	λ max mμ	Dm %	HwBr mμ	Durchmesser mm
Na	0,30	75	Na 59	590			50
K	0,26	60	SJF 770a	771,5	33,4	12,8	50
Ca	0,40	80	SJF 625a	620	29,3	8,2	50

Dieser konstant gehaltenen Konzentration setzten wir eins der beiden anderen Elemente bzw. beide bis zu einem Überschuß von 1 : 280 zu und maßen den Ausschlag an einem Skalengalvanometer.

Da uns im Hinblick auf die Frage einer echten Emissionsbeeinflussung weniger die absoluten Mehrausschläge, die nicht miteinander vergleichbar sind, als vielmehr das Ausmaß der Ausschlagssteigerung interessieren, schafften wir uns ein Vergleichssystem. Wir zogen vom abgelesenen Wert (angegeben in Skalenteilen, Skt) den Leerwert der zugesetzten Substanz ab und bezogen diesen „gereinigten Mehrausschlag" auf den Wert der zusatzfreien Kontrollösung, den wir als 1,00 bezeichneten. Als Zusätze wählten wir: Alkohole, Äther, Ketone, Aldehyde, Monocarbonsäuren, zweibasische Säuren, einige aromatische Verbindungen und Netzmittel. — Um die Veränderungen der Zerstäubbarkeit zu erfassen, die mit der Zugabe organischer Substanzen verbunden sind, bestimmten wir Viscosität und Oberflächenspannung der zum Vergleich herangezogenen Konzentrationen von 50%. Die Viscosität wurde mit dem Viscosimeter nach Ostwald gemessen; ihre in der Tab. 3 (S. 89) angegebenen Werte wurden nach der Formel $\eta = \eta_0 \frac{st}{s_0\, t_0}$ berechnet (η_0 = Viscosität des Wassers, bei der Relativmessung als 1,00 eingesetzt. s_0 = spezifisches Gewicht und t_0 = Durchlaufszeit in dest. Wasser; s und t sind die entsprechenden Werte der untersuchten Lösung). Die Oberflächenspannung bestimmten wir mit dem Stalagmometer nach Traube und berechneten ihren Relativwert gegen dest. Wasser nach der Formel $o = \frac{s \cdot zw}{z}$ (zw = Tropfenzahl in dest. Wasser, z = Tropfenzahl des Gemisches.)

Ergebnisse

1. Gegenseitige Beeinflussung der Elemente:

Die Wirkungen, die die drei Elemente aufeinander ausüben, sind in Abb. 1—5 (S. 84, 85) dargestellt. Da die absoluten Ausschläge der Vergleichslösungen ohne Zusatz bei K und Ca mit 20—30 Skt sehr niedrig sind, und die Meßungenauigkeit des Galvanometers mit ± 0,5 Skt angegeben werden muß, werden erst Abweichungen von 7,5% (= 3δ) als signifikant angesehen. Im einzelnen sind die Ergebnisse folgende:

Natrium. Zugaben zu K haben im Interferenzfilter (IF) den gleichen Effekt wie im Farbglasfilter (Abb. 1, 2, 4). Ihre Leerwerte dagegen sind wesentlich kleiner, sie erreichen selbst bei Na-Konzentrationen von 137 mÄqu/l nicht den Wert von 10 Skt. Auch im IF ist der stufenförmige Verlauf der „Steigerungskurve" zu finden. Er ist bei dem flacheren Verlauf der ganzen Kurve nicht so ins Auge fallend wie im Farbglasfilter, liegt jedoch innerhalb des gleichen Na-Konzentrationsbereiches, ist reproduzierbar und die zu beiden Seiten der „Ebene" ansteigenden Werte liegen außerhalb der Fehlerbreite.

Die Steigerung des Ca-Ausschlages durch Na ist wesentlich geringer, aber ebenfalls deutlich (Abb. 3).

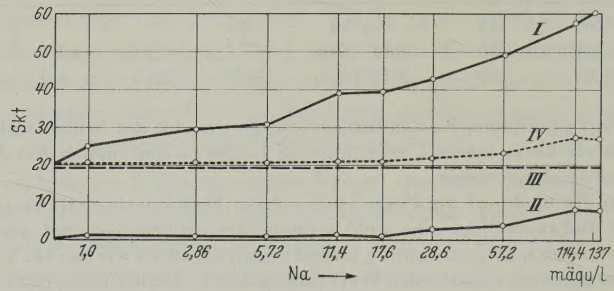

Abb. 1. *Beeinflussung des Kaliumausschlages durch Na-Zugaben.* K-Konzentration = 0,1 mÄqu/l; Preßluft: 0,26 kp/cm²; Acetylen: 60 mm Ölsäule; Filter: K 771,5 IF; Blende: 32 3; Selen-Sperrschichtelement; Galvanometerempfindlichkeit: 1 ×. Kurve I: mit ansteigenden Na-Zugaben (Abszisse) abgelesene Ausschläge. Kurve II: Leerwerte der entsprechenden Na-Konzentrationen ohne K unter K-Bedingungen. Kurve III: Ausschlag der K-Lösung ohne Na. Kurve IV: Theoretische Kurve einer Addition des Na-Leerwertes zum K-Ausschlag. Abszisse: Logarithmischer Maßstab. Koordinate: Dekadischer Maßstab

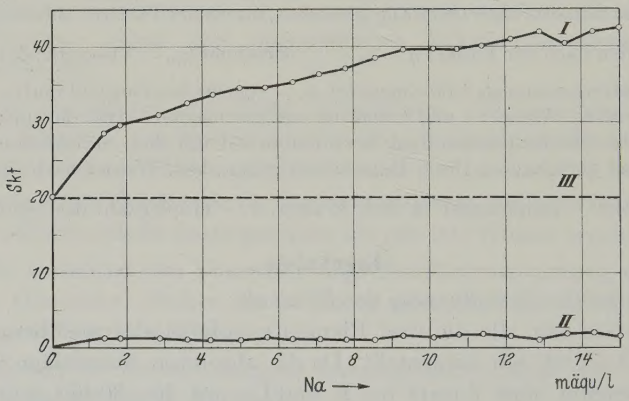

Abb. 2. *Beeinflussung des Kaliumausschlages durch Na-Zugaben.* K-Konzentration und Versuchsbedingungen wie in Abb. 1. Kurve I: mit ansteigenden Na-Zugaben abgelesene Ausschläge. Kurve II: Leerwerte der entsprechenden Na-Konzentration ohne K unter K-Bedingungen. Kurve III: Ausschlag der K-Lösung ohne Na

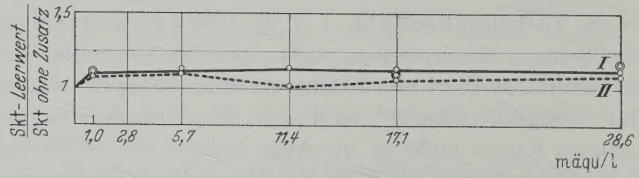

Abb. 3. *Wirkung von Natrium und Kalium auf die Calciumemission.* Ca: 0,1 mÄqu/l; Preßluft: 0,40 kp/cm²; Acetylen: 80 mm Ölsäule; Filter: Ca 620 IF; Blende: 34; Selen-Sperrschichtelement; Galvanometerempfindlichkeit: 1 ×. Kurve I: Na-Zugabe. Kurve II: K-Zugabe. Doppelt umrandete Meßpunkte 0: Zugabe äquivalenter Mengen Na + K

Kalium. Im Überschuß bis zu einem Na-K- bzw. Ca-K-Verhältnis von 1 : 280 zugesetzt, steigert Kalium den Ca-Ausschlag bereits bei Konzentrationen von 1,0 mÄqu/l um etwa 10%; weitere Erhöhungen der K-Konzentration bewirken kaum noch einen Anstieg der Kurve. Beim Zusatz zu Na gibt schon ein Na-K-Verhältnis von 1 : 1 einen Mehrausschlag von 10%, aber auch hier ist der weitere Kurvenverlauf außerordentlich flach und erreicht nur den Höchstwert 1,20. Dies steht in Übereinstimmung mit den für den Anfangsteil der Kurve erhobenen Verlauf, wie er von DOMINGO u. KLYNEN[3] angegeben wird.

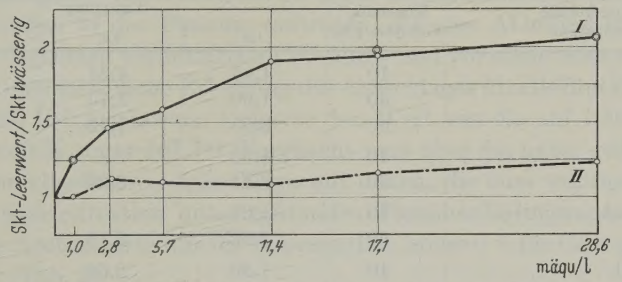

Abb. 4. *Wirkung von Natrium und Calcium auf die Kaliumemission.* K: 0,1 mÄqu/l (entsprechend einer Serumverdünnung von 1 : 50); Versuchsbedingungen wie in Abb. 1. Kurve I: Na-Zugaben. Kurve II: Ca-Zugaben. Doppelt umrandete Meßpunkte 0: Zugaben äquivalenter Mengen Na + Ca

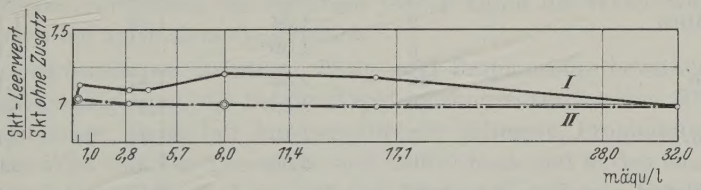

Abb. 5. *Wirkung von Kalium und Calcium auf die Natriumemission.* Na 0,286 mÄqu/l (entsprechend einer Serumverdünnung von 1 : 500); Preßluft: 0,30 kp/cm²; Acetylen: 75 mm Ölsäule; Filter: Na 59; Blende: 35,5; Selen-Sperrschichtelement; Galvanometerempfindlichkeit: 1×. Kurve I: K-Zugaben. Kurve II: Ca-Zugaben. Doppelt umrandete Meßpunkte 0: Zugabe äquivalenter Mengen K + Ca

Calcium. Hier ist der Kurvenverlauf auch im Anfang sehr flach. Na gegenüber ist der Einfluß noch geringer als bei K (Abb. 5). In hohen Konzentrationen, etwa von einem 56fachen Ca-Überschuß an, scheint sogar ein geringer deprimierender Effekt bemerkbar zu werden.

Gemische zweier Elemente in äquivalenten Konzentrationen ergeben niemals eine Addition beider steigender Effekte. Zugaben von Na + K zu Ca führen zum gleichen Mehrausschlag wie die entsprechende Na-Menge allein. Die K-Ausschläge sind bei kombiniertem Zusatz von Na und Ca sogar etwas niedriger als bei Na allein. (Für den Bereich physiologischer Konzentrationen fanden auch andere Autoren eine Löschung des K- bzw. Ca-Effektes durch gleichzeitige Gegenwart von Na[2, 10].

2. Organische Substanzen:

Alkohole. Zum Vergleich mit der schon mitgeteilten Steigerung der Ausschläge durch Methanol wurden Äthanol und Isopropanol in Konzentrationen von 0—100% zugesetzt. Beide ergeben ebenfalls bei sehr kleinen Leerwerten hohe Mehrausschläge für alle drei Elemente. Die Ausschläge erreichen jedoch nicht die bei Methanolzusatz abgelesenen Werte (Tab. 2).

Tabelle 2. *Emissionssteigernde Wirkung organischer Substanzen*
Die Ausschläge sind als Verhältnis zu dest. Wasser = 1 angegeben

Zugegebene Substanz	Konzentr. Vol. bzw. g %	Ausschlag		
		Ca	Na	K
Methanol	10	1,45	1,31	1,25
	50	1,90	1,70	3,00
	90	2,55	1,72	6,81
Äthanol	10	1,53	—	—
	50	2,14	2,26	5,00
Isopropanol	10	1,67		
	50	2,03	2,15	6,30
Isobutanol	10	1,80	2,02	4,03
Äthylenglykol	50	0,90	0,76	0,32
Glycerin	10	0,79	0,70	0,90
	50	0,54	0,32	0,44
Äthyläther	2	1,04	1,03	1,11
	5	1,00	—	2,10
Dioxan	10	1,33	1,47	2,10
	50	1,50	1,67	6,54
Aceton	5	1,10	1,44	2,18
	10	2,03	1,57	3,05
Acetaldehyd	25	—	2,17	2,12
Ameisensäure	50	1,65	1,48	1,79
Essigsäure	50	1,89	1,82	2,73
Propionsäure	50	2,11	2,05	3,26
Weinsäure	50	0,50	0,40	0,63
Benzol (+ Äthanol)	8	1,00	1,20	1,20
Xylol (+ Äthanol)	7	1,00	1,00	1,30
	20	1,10	1,00	1,30
Pyridin	10	1,30	1,40	2,00
	30	1,30	1,50	2,10
	50	—	1,50	2,20
	70	—	1,50	2,60

Äthylenglykol und Glycerin, die als Vertreter zwei- bzw. dreiwertiger Alkohole verwendet wurden, ergeben in keinem Falle einen echten Mehrausschlag. Im Gegenteil, nach Abzug der hohen Leerwerte ist der auf das

gesuchte Element zu beziehende Wert um 20—30 bzw. 40—60% gegenüber dem der freien Kontrollösung gesenkt (Tab. 2).

Äther. Geprüft wurden Äthyläther in einer Konzentration von 7% und Dioxan. Beide geben in der Flamme große Funken, die zu stoßartigen Galvanometerausschlägen führen und die Ablesung erschweren. Sie steigern jedoch die Ausschläge bei kleinen Leerwerten erheblich. In der Vergleichslösung von 50% Dioxan ist der K-Ausschlag 6,5, der des Na 1,67, der des Ca 1,5.

Ketone. Von dieser Gruppe wurde Aceton untersucht. Dabei ergab sich die Schwierigkeit, daß schon bei geringen Konzentrationen (20%) grellweiße Streifen in der Flamme auftraten, die eine Ablesung unmöglich machten. Bei stark vermindertem Preßluft- und vor allem Acetylendruck fand sich eine erhebliche Erhöhung des Ausschlages für alle drei Elemente. Schon eine 10%ige Lösung steigerte den Wert von Na auf 1,56, von Ca auf 2,0, von K sogar auf 3,0. Vergleicht man aber die unter gedrosselter Gaszufuhr abgelesenen Ausschläge mit denen, die eine wäßrige Lösung gleicher Konzentration unter optimalen Flammenbedingungen gibt, so liegen die Acetonwerte nur für K wesentlich höher[1, 4], für Ca sogar etwas niedriger (Tab. 2).

Acetaldehyd zeigt ein ganz ähnliches Verhalten. Auch hier treten Streifen in der Flamme auf, es sind deutliche Mehrausschläge bei geringen Leerwerten vorhanden, sie erreichen jedoch kaum die Werte wäßriger Lösungen bei optimalem Gasgemisch.

Monocarbonsäuren. Ameisen-, Essig- und Propionsäure bewirken eine Ausschlagssteigerung, die bei der Vergleichskonzentration von 50% 1,5 bis 3,3 beträgt. Dabei hat Ameisensäure die geringste, Propionsäure die stärkste Wirkung. Die Leerwerte sind relativ hoch und in den einzelnen Filtern unterschiedlich. Eine 50%ige Ameisensäurelösung hat im Ca-Filter einen Ausschlag von 6 Skt, in den anderen nur 1—3 Skt. Essigsäure hat in allen Filtern Leerwerte von einigen Skt, am höchsten im Na-Filter (Na-Filter = 15,58 Skt, K-Filter = 4,92 Skt, Ca-Filter = 5,21 Skt). Propionsäure zeigt im Na-Filter Werte von 18,63 Skt, in den beiden anderen nur 0—1. Auffällig ist, daß die Steigerung durch Monocarbonsäure bei Ca im Gegensatz zu allen anderen untersuchten Substanzen genau so groß, gegebenenfalls sogar etwas größer als die des Na-Ausschlages ist.

Weinsäure zeigte nach kurzer Zerstäubungszeit ein Absinken der anfangs durch die in allen Filtern hohen Leerwerte etwas gesteigerten Ausschläge. Auch anschließend zerstäubte Eichlösungen erreichten nicht ihren Sollwert. Erst nach gründlicher mechanischer Reinigung des gesamten Zerstäuber-Schlauch-Brennersystems waren die normalen Bedingungen wieder hergestellt. Diese Senkung der Werte wird dadurch

bedingt, daß sich an allen Wänden ein feiner Film niederschlägt, der den Querschnitt der Düse verengt.

Aromatische Verbindungen. Benzol, Xylol und Pyridin wurden untersucht. Xylol und Benzol mußten wegen der schlechten Mischbarkeit mit Wasser als ternäres Gemisch mit Äthanol zugegeben werden. Dies Gemisch gibt einen sehr hohen Ausschlag, nach Abzug der durch Aethanol allein hervorgerufenen Steigerung bleibt jedoch für die Xylol- bzw. Benzolwirkung nur der Wert 1,1—1,3. Wieweit sich dahinter ein ähnlicher Effekt verbirgt wie bei der Zugabe zweier Ionen zum dritten, muß offen bleiben, da keine wasser- und alkoholfreien Lösungen verwendet wurden.

Pyridinzusatz ergibt einen Mehrausschlag, der bei K das Doppelte, bei Na und Ca nur etwa 1,5 beträgt. Seine Leerwerte sind in allen Filtern sehr klein.

Netzmittel. Da die Qualität des im Zerstäuber erzeugten Nebels für die Menge, die bis zum Brenner transportiert und dort zur Emission angeregt wird, eine große Rolle spielt, versuchten wir die Zerstäubung durch Zugabe von Netzmitteln zu verbessern. Hierbei traten zwei Schwierigkeiten auf. Der größte Teil der als Netzmittel verwendeten Substanzen liegt als Salz eines Alkali- oder Erdalkalisalzes vor und ist deshalb von vornherein für die Verwendung im Flammenphotometer unbrauchbar. Aus den anderen (in unserem Falle Leuna RI 51) kann man die technische Verunreinigung durch Natrium mit Ionenaustauschern entfernen. Auf Grund ihrer hohen Oberflächenaktivität tritt jedoch sofort eine starke Benetzung des gesamten Weges ein. Bereits bei einer Konzentration von 14% war innerhalb kürzester Zeit die Zerstäuberdüse völlig undurchlässig. Das gleiche geschah bei der Verwendung von Desoxycholsäure. Eine Ausschlagssteigerung war auch zu Beginn der Zerstäubung nie zu beobachten.

Diskussion

Für die Erklärung des Mechanismus der dargelegten Effekte gibt es zwei prinzipielle Möglichkeiten.

1. Der Einfluß auf die gemessene Intensität der untersuchten Wellenlänge ist indirekt, d. h. er beruht darauf, daß das Material in einem veränderten Zustand zur Anregung kommt.

2. Es findet eine echte Beeinflussung der Emission statt.

Zu den indirekten Wirkungen zählt neben Viscosität und Oberflächenspannung die Temperatur der Flamme. Nach Literaturangaben[11, 12, 15] beträgt sie 1000—2000° C. Wir fanden bei unseren Gasgemischen Temperaturen zwischen 1100 und 1200°C, gemessen mit dem „Pyrolux III". Die Zerstäubung verschiedener Zusätze bewirkte eine geringe Temperatursenkung um etwa 50° C. Dieser Befund stimmt mit den Angaben von Mavrideanu

Tabelle 3. *Reihenfolge der Ausschlagssteigerung*

Die Ausschlagwerte, Viscosität und Oberflächenspannung sind als Verhältnis zu dest. Wasser = 1 angegeben

Substanz	Konzentr. Vol. bzw. g %	Ausschlag	Viscosität	Oberflächen-spannung
Natrium: 1. Äthanol	50	2,26	2,73	0,45
2. Acetaldehyd	25	2,17	1,56	0,69
3. Isopropanol		2,15	3,12	0,38
4. Propionsäure	50	2,05	2,34	0,47
5. Isobutanol	10	2,02	1,40	0,37
6. Essigsäure	50	1,82	2,01	0,58
7. Methanol	50	1,70	1,75	0,56
8. Dioxan	50	1,67	2,11	0,63
9. Aceton	10	1,57	1,13	0,72
10. Pyridin	50	1,50	2,21	0,68
11. Ameisensäure	50	1,48	1,31	0,69
12. Äthyläther	2	1,03	1,13	0,68
13. Äthylenglykol	50	0,76	3,78	0,82
14. Weinsäure	50	0,40	4,38	1,09
15. Glycerin	50	0,32	4,73	1,09
Kalium: 1. Dioxan	50	6,54	2,11	0,63
2. Isopropanol	50	6,30	3,12	0,38
3. Äthanol	50	5,00	2,73	0,45
4. Isobutanol	10	4,03	1,04	0,37
5. Propionsäure	50	3,26	2,34	0,47
6. Methanol	50	3,00	1,75	0,56
7. Aceton	10	2,90	1,13	0,72
8. Acetaldehyd	25	2,90	2,12	0,69
9. Essigsäure	50	2,73	2,01	0,58
10. Äthyläther	5	2,10	1,13	0,68
11. Pyridin	50	2,20	2,21	0,68
12. Ameisensäure	50	1,79	1,31	0,69
13. Xylol/Äthanol	20/68	1,30	—	—
14. Benzol/Äthanol	8/58	1,20	2,45	0,41
15. Äthylendiamin	50	1,20	1,55	—
16. Äthylenglykol	50	0,32	3,78	0,82
17. Weinsäure	50	0,63	4,38	1,09
18. Glycerin	50	0,44	4,73	1,09
Calcium: 1. Äthanol	50	2,14	2,73	0,45
2. Propionsäure	50	2,11	2,34	0,47
3. Isopropanol	50	2,03	3,12	0,38
4. Aceton	10	2,03	1,13	0,73
5. Methanol	50	1,90	1,75	0,56
6. Essigsäure	50	1,89	2,01	0,58
7. Isobutanol	10	1,80	1,40	0,37
8. Ameisensäure	50	1,65	1,31	0,69
9. Dioxan	50	1,50	2,11	0,63
10. Äthyläther	5	1,00	1,13	0,68
11. Pyridin	30	1,30	2,21	0,68
12. Xylol/Äthanol	20/68	1,10	—	—
13. Benzol/Äthanol	8/58	1,00	2,45	0,41
14. Äthylenglykol	50	0,90	3,78	0,82
15. Glycerin	50	0,54	4,73	1,09
16. Weinsäure	50	0,50	4,38	1,09

u. Boiteux[12] sowie Herrmann[5] überein, die für die Methanolflamme eine Temperaturerniedrigung von 50° C beschreiben. Die Einflüsse auf die Zerstäubbarkeit des Untersuchungsmaterials durch Zusätze organischer Substanzen sind — wie die ausschlagssenkende Wirkung von Glycerin zeigt — an der Wirkung beteiligt. Sie sind jedoch mit Sicherheit nicht die wesentlichen Faktoren. Tab. 3 (S. 89), in der die Substanzen in der Reihenfolge ihrer ausschlagssteigernden Wirkung angeordnet sind, zeigt, daß diese Reihenfolge sich nicht annähernd mit den Viscositätsverhältnissen oder Oberflächenspannung der Stoffe deckt. Sie läßt auch erkennen, daß die drei Elemente in ganz verschiedenem Maße durch die Zusätze beeinflußt werden. Da jede Bestimmung unter den für das geprüfte Element optimalen Gasbedingungen durchgeführt wurde und die Möglichkeit bestand, daß sich Änderungen der Viscosität und Oberflächenspannung bei verschiedener Zerstäubungsgeschwindigkeit verschieden äußern, wurde zur Kontrolle die Methanolwirkung unter gleichbleibenden Anregungsbedingungen wiederholt. Wie aus Abb. 6 hervorgeht, ist auch hierbei die Ausschlagssteigerung bei allen drei Elementen verschieden. Da die Veränderungen des Materials auf dem Wege zum Ort der Anregung die Effekte der Ausschlagssteigerung nicht erklären können, erscheint die Annahme einer echten Emissionsbeeinflussung berechtigt.

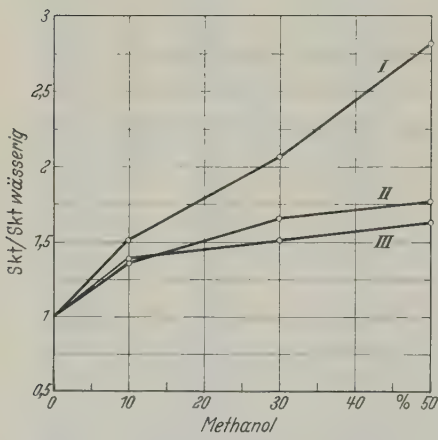

Abb. 6. *Wirkung von Methanolzusätzen auf die K, Na, Ca-Emission unter gleichen Anregungsbedingungen.* Methanol „acetonfrei". K: 0,1 mÄqu/l; Ca: 0,1 mÄqu/l; Na: 0,286 mÄqu/l; Preßluft; 0,30 kp/cm²; Acetylen: 75 mm Ölsäule; Filter: Na 59, IF 620. SIF 771,5; Blende: 37; Selen-Sperrschichtelement; Galvanometerempfindlichkeit: 1×. Kurve I: Kalium; Kurve II: Natrium; Kurve III: Calcium

Aus den Abb. 1—5 und der Tab. 2 geht hervor, daß große Unterschiede sowohl in der ausschlagssteigernden Wirkung der verschiedenen Zusätze bestehen als auch in der Emissionssteigerung der einzelnen Elemente. Am auffälligsten ist dieser Unterschied bei der gegenseitigen Beeinflussung, bei der die Natriumwirkung die der beiden anderen Elemente um ein Mehrfaches übertrifft. Kalium dagegen zeichnet sich dadurch aus, daß sein Ausschlag sowohl durch Natrium und Calcium als auch durch die übrigen Zusätze am stärksten gesteigert wird.

Ein weiterer Hinweis auf die spezifischen Vorgänge zwischen den in der Flamme an den Effekten beteiligten Teilchen — seien es Atome, Ionen,

Moleküle oder Radikale — ist in dem Verlauf der „Anregungskurve" zu sehen. Außer bei der „Kaliumanregungskurve durch Natrium" finden wir einen in seiner Neigung etwas verschiedenen, aber immer ziemlich steilen Anstieg bis zu einem zehnfachen Überschuß des zugesetzten Elementes. Der Mehrausschlag beträgt 10—15%. Danach steigen die Kurven nicht mehr oder nur noch minimal an. Die Na-K-Kurve dagegen (das am stärksten steigernde Element mit dem am leichtesten gesteigerten!) hat einen stufenförmigen Verlauf. Dieser Verlauf ist reproduzierbar und auch bei verschiedener Selektivität der Filter zu beobachten. Daß die Stufen im Interferenzfilter kleiner sind, liegt an der viel geringeren maximalen Durchlässigkeit dieses Filters.

Als Erklärung für dieses Phänomen läßt sich die Tatsache heranziehen, daß im Emissionsspektrum bei zunehmender Konzentration des emittierenden Stoffes neue Linien auftreten. Diese zeigen im Gegensatz zu den Analysenlinien bei weiterer Konzentrationssteigerung keine proportionale Intensitätszunahme, sondern ihre Intensitätskurve geht sehr bald in einen asymptotischen Verlauf über. Damit erreicht auch ihre emissionsbeeinflussende Wirkung auf ein benachbartes Element eine Sättigung. Mehrere derartige asymptotische Kurvenabschnitte geben den treppenförmigen Verlauf der Gesamtkurve.

Vergleicht man die Literaturangaben über ausschlagssteigernde Effekte bei Verwendung verschiedener Gasgemische, so zeigen sich darin systematische Unterschiede. Schon in seinem ersten Bericht gibt Riehm[13] an, daß die gegenseitige Beeinflussung der Elemente bei Acetylen-Luftgemischen „grundverschieden" von der bei Leuchtgas-Luft sei. Natrium hat z. B. in der Leuchtgasflamme keinen Einfluß auf die Kaliumwerte, in der Acetylenflamme dagegen einen sehr deutlichen. Auch die von Hyssing[16] mit Leuchtgas beobachtete Steigerung der Kaliumausschläge mit einem Mehrausschlag von 10% bei Zugaben von 300 mg/100 ml ist gegenüber der mit Acetylen feststellbaren außerordentlich gering. Domingo u. Klyne[3] vergleichen die gegenseitige Beeinflussung bei Acetylen-Luft- und Butan-Luftgemischen und stellten fest, daß die bei Acetylen beobachteten Effekte bei Butan nicht eintraten. Kingsley u. Schaffert[9] untersuchten die ausschlagssteigernden Effekte von Aceton, Methanol, Äthanol, Isopropanol, Dioxan, Aethylaether und anderen organischen Substanzen mit Acetylen-Sauerstoffgemisch. Die angeführten Mehrausschläge sind etwas geringer als bei unserer Untersuchung und die Reihenfolge der Elemente ist dabei eine andere. Calcium wird am stärksten, K dagegen am wenigsten gesteigert.

Diese Vergleiche lassen zwei Deutungen zu: 1. scheint die Emission des Elementes am deutlichsten beeinflußt zu werden, das in der betreffenden Flammentemperatur überhaupt am leichtesten angeregt wird. In der Acetylen-Luftflamme ist dies das Kalium, in der heißeren Acetylen-

Sauerstoffflamme das Calcium. Systematische Untersuchungen mit verschiedenen Gasgemischen unter sonst vergleichbaren Bedingungen sind erforderlich. Die Temperaturunterschiede erklären jedoch nicht die Effekte, die bei gleichem Gasgemisch, das nur ganz geringe Unterschiede aufweist, auftreten. Hier erscheint die Annahme berechtigt, daß 2. auch die Moleküle des Gases an der Anregung beteiligt sind.

Im Spektrum der Blaukegel wurden bei der Acetylen-Luftflamme Absorptionsbanden gefunden, die auf die Gegenwart von CH, OH, CC und H hinweisen. Ihnen wird ein Teil der anregenden Wirkung der Flamme zugewiesen. Es wäre denkbar, daß sich auch aus den zugesetzten organischen Substanzen Radikale bilden, die auf dem Wege der direkten Anregung oder der Löschung hemmender Einflüsse die Emission steigern.

Noch herrschen große Unklarheiten über die Natur der Flamme und die Form, in der die Elemente zur Emission angeregt werden. Alle diese theoretischen Fragen gewinnen jedoch mit der weiteren Verbreitung flammenphotometrischer Untersuchungsmethoden ein großes praktisches Interesse. Ob Moleküle, Atome, Ionen oder Oxyde am Ort der Anregung vorliegen, ist eine noch offene Frage. Die aus den Beobachtungen bei der Flammenphotometrie gewonnenen Hinweise deuten darauf hin, daß sich intercorpusculäre Vorgänge abspielen. Sie erscheinen einer intensiven physikalischen Erforschung wert.

Zusammenfassung

Systematische Untersuchungen der ausschlagsteigernden Wirkung verschiedener Zusätze zu den Elementen Na, K und Ca wurden durchgeführt. Sie zeigen, daß sowohl die gegenseitige Beeinflussung der Elemente als auch die Wirkung organischer Substanzen differenziert sind und bestimmten Gesetzmäßigkeiten folgen. Durch Vergleiche der Flammentemperaturen, Viscositäten und Oberflächenspannungen läßt sich beweisen, daß diese Faktoren nicht ausschlaggebend für den Effekt sind. Es wird daraus geschlossen, daß eine echte Beeinflussung der Emission stattfindet. Diese wird wahrscheinlich gemacht durch die verschiedenen Typen der gegenseitigen Beeinflussung, den besonderen Verlauf des Natriumeinflusses auf Kalium und Literaturvergleiche über die Verschiedenartigkeit der Beeinflussungen in verschiedenen Gasgemischen.

Literatur

[1] Belke, J., u. A. Dierkesmann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **205**, 629 (1948). — [2] von Dev, A., u. H. J. Höfert: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **214**, 109 (1951). — [3] Domingo, W. R., and W. Klyne: Biochemic. J. **45**, 400 (1949); vgl. diese Z. **133**, 201 (1951). — [4] Hald, P. M.: J. biol. Chemistry **167**, 499 (1947). — [5] Herrmann, R.: Z. ges. exp. Med. **118**, 187 (1952). — [6] Hilgers, A.: Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **294**, 61 (1954). — [7] Holiday, E. R., and R. K. Preedy: Biochemic. J. **55**, 214 (1953); vgl. diese Z. **145**, 269 (1955). — [8] Hübener, H. J,. H. Kreuziger, R. Heintz u. M. Koch: Z. ges. exp.

Med. **119**, 523 (1952). — [9] Kingsley, G. R., and R. R. Schaffert: J. biol. Chemistry **206**, 807 (1954). — [10] Kühns, K., u. G. Müller: Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **294**, 86 (1953/54); vgl. diese Z. **144**, 129 (1955). — [11] Lundegardh, H.: Fischer/Jena (1934). — [12] Mavrodineanu, R., et H. Boiteux: Analyse spectrale par la flamme, Paris 1954. — [13] Riehm, H.: diese Z. **128**, 249 (1948). — [14] von Schönberg, W. D.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **214**, 358 (1952). — [15] Shuckers, C. F.: Amer. J. clin. Pathol. **22**, 606 (1952). — [16] Siebert, H., u. S. Rapoport: Biochem. Z. **326**, 413 (1955).

Prof. Dr. S. Rapoport, Berlin N 4, Hessische Straße 3—4

Aus dem Institut für Mikrobiologie und experimentelle Therapie, Jena
(Direktor: Prof. Dr. H. Knöll)

Registrierende Hochfrequenzpapierchromatographie

Von
F. Oehme

Mit 8 Textabbildungen

(Eingegangen am 4. November 1955)

Hashimoto und Mori berichten über Versuche, die Auswertung von Papierchromatogrammen durch die Beeinflussung eines hochfrequenten Schwingungskreises vorzunehmen[1, 2]. Die Methode ist subjektiv und selbst die qualitative Auswertung der von Hand gezeichneten Kurven ist schwierig. Nach unseren Arbeiten kann das Verfahren jedoch als Registriertechnik ausgebaut werden und läßt in der neuen Form zumindest halbquantitative Aussagen zu. Der folgende Beitrag enthält sowohl apparative als auch meßtechnische Angaben und belegt die Brauchbarkeit der Methode für die Trennung von Elektrolytgemischen.

1. Meßprinzip und apparative Angaben

Wird feuchtes, elektrolytfreies Filterpapier als Dielektrikum zwischen die Beläge eines Kondensators gebracht, so resultiert im wesentlichen eine reine Kapazität, die durch ein Ersatzschaltbild nach Abb. 1a (S. 94) dargestellt werden kann. Das Vorhandensein von Elektrolyten auf dem Papier bewirkt demgegenüber das Auftreten einer Ableitung G (Abb. 1b, S. 94) und die Kapazität wird stark verlustbehaftet.

Ableitungsverluste lassen sich durch die Dämpfung eines Schwingungskreises nachweisen, der den interessierenden Kondensator C_M parallel zu den Elementen L und C des Kreises geschaltet enthält. Meßtechnisch einfache und übersichtliche Verhältnisse ergeben sich, wenn der Schwingungskreis nach Abb. 2 (S. 94) Bestandteil eines einstufigen Quarzoscillators ist.

Die Möglichkeit einer Gitterstrommessung mit dem Gerät J_G läßt unmittelbar Rückschlüsse auf die Kreisdämpfung und damit auf die Ableitungsverluste des Dielektrikums in C_M zu, wenn durch Quarzsteuerung für Frequenzkonstanz und durch gute Stabilisierung der

Betriebsspannungen für die Ausschaltung aller sekundären Einflüsse auf den Gitterstrom gesorgt wird[3].

Für die praktischen Messungen wurde ein vom Verf. entwickeltes DK-Meter mit einer Arbeitsfrequenz von 3 MHz benutzt[4]. Die Stabilisation der Betriebsspannungen durch einen Magnetkonstanthalter erwies sich als ausreichend.

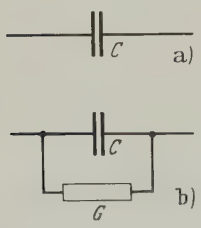

Abb. 1

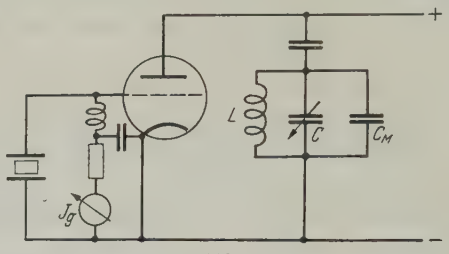

Abb. 2

Abb. 1. Ersatzschaltbild *a*) eines verlustfreien Kondensators, *b*) eines Kondensators mit Ableitung *G*
Abb. 2. Prinzipschaltung eines einstufigen Quarzoscillators; C_M Meßkondensator, J_G Gitterstrommeßgerät

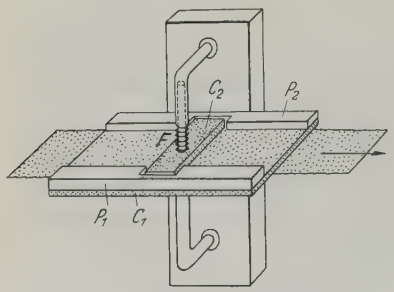

Abb. 3

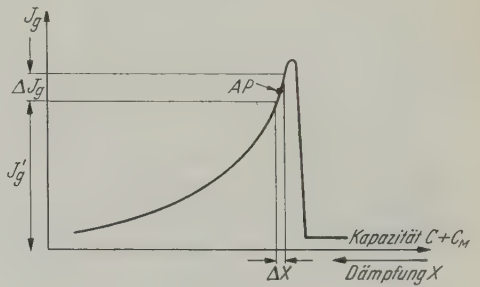

Abb. 4

Abb. 3. Bauprinzip des Meßkondensators C_M; C_1 u. C_2 kapazitive Meßstrecke, *F* Andruckfeder für C_2. P_1 u. P_2 Führungsleisten für Streifen
Abb. 4. Gitterstromcharakteristik eines Quarzoscillators; *AP* Arbeitspunkt

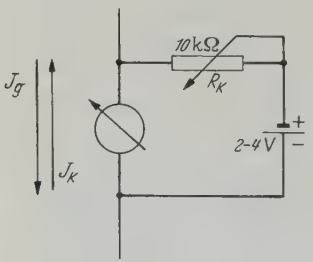

Abb. 5

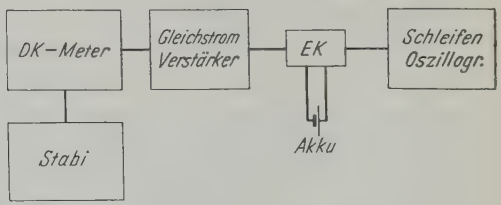

Abb. 6

Abb. 5. Schaltung eines Kompensationsgerätes für den Grundstrom. J_g = Gitterstrom, J_k = Kompensationsstrom, regelbar durch R_k
Abb. 6. Blockschaltbild der vollständigen Registrieranordnung; *Stabi* Magnetkonstanthalter, *EK* Kompensationsgerät

Der Bau des Meßkondensators, der für die Aufnahme von „Papierchromatogrammen nach der Streifenmethode" (ferner kurz als „Streifen" bezeichnet) entwickelt wurde, geht aus Abb. 3 hervor.

Nach Anschalten eines Mikroamperemeters von etwa 100 μA Vollausschlag an die Gitterstrombuchsen des DK-Meters wird bei angeschaltetem Meßkondensator und einem eingespannten elektrolytfreien Streifen durch Verändern von C des Schwingungskreises (s. Abb. 2) der Arbeitspunkt AP des Oscillators in die Nähe des Gitterstrommaximums auf dem ansteigenden Ast der Gitterstromkurve gebracht (Abb. 4).

Da ein kräftig schwingender Quarz auf diese Art einen Strom von 500—700 μA liefert und andererseits nur relativ kleine Gitterstromänderungen durch die geringen Substanzmengen eines Papierchromatogramms zu erwarten sind, wird durch einen Kompensationsstrom der für die Messungen nicht interessiernde Grundstrom J_g weitgehend unterdrückt. Die sich ergebenden kleinen Gitterstrom*änderungen* ΔJ_g können dann mit der vollen Empfindlichkeit des Anzeigeinstrumentes beobachtet werden (Abb. 5).

Mit dieser Anordnung läßt sich bereits eine subjektive Auswertung von Chromatogrammen vornehmen, wenn die Streifen in definierten Strecken durch den Meßkondensator gezogen und die jeweils sich einstellenden Gitterströme notiert werden. Vorhandene „Zonen" geben sich durch mehr oder weniger ausgeprägte Minima im Stromfluß zu erkennen.

Es erschien uns von Anfang an wünschenswert, die Methode selbsttätig registrierend auszubauen. Da als Registriergerät ein Schleifenoscillograph nach Sörensen zur Verfügung stand, dessen Meßschleifen zur Aussteuerung etwa 3 mA benötigen, wurden die interessierenden Gitterstromänderungen ΔJ_g auf den Eingang eines Gleichstromverstärkers nach dem Zerhackerprinzip gegeben (Abb. 6).

Der Vorschub der Streifen im Meßkondensator erfolgte durch eine Schleppvorrichtung, die aus einem Motor mit niedertourigem Getriebe bestand (Schneckenübersetzung, etwa 1 U/min), dessen Achse eine Trommel von 15 cm Durchmesser mit einem auf dem Umfang aufgespannten Stoffband trug, das mit einer Klemmvorrichtung am Streifen befestigt werden konnte. Der im Schleifenoscillographen eingebaute Regelwiderstand für den Transport des photographischen Registrierpapiers ließ in einfacher Weise eine Synchronisation der Streifengeschwindigkeit mit der Geschwindigkeit des Registrierpapieres zu. Die weitgehende Automatisierung des Sörensen-Oscillographen erleichterte die Arbeit außerordentlich, da nach dem Einspannen des Streifens in den Meßkondensator und Ankoppeln an die Schleppvorrichtung mit einem gemeinsamen Schalter sowohl diese als auch der Oscillograph eingeschaltet werden konnten. In die Photokassette wurden bis zu 10 Registrierdiagramme hintereinander aufgenommen.

Eine etwas andere Möglichkeit zur registrierenden Auswertung ergibt sich, wenn die Gitterstromänderungen mit der Phototrommel eines Heyrovský-Polarographen aufgezeichnet werden. Die Notwendigkeit einer Verstärkung entfällt hier, nur ist durch eine besondere Antriebsachse eine Synchronisation zwischen dem Streifenvorschub und der Drehung der Phototrommel zu schaffen. Auch ein Kymograph mit Spiegelgalvanometer läßt sich in diesem Sinne verwenden.

2. Meßtechnik und Anwendungsmöglichkeiten

Die durch elektrolythaltige Zonen auf den Streifen bedingten Ableitungsverluste hängen von der Elektrolytnatur der Substanz, von ihrer Konzentration und der Streifenfeuchte ab. Da mit zunehmender Feuchtigkeit die Ableitungsverluste größer werden und damit die Ansprechempfindlichkeit steigt, kam es darauf an, eine bestimmte Wassermenge auf dem Streifen zu fixieren. Durch Besprühen mit einem Gemisch Methanol—Glycerin (1:4) oder durch Tauchen des Streifens unter definierten Bedingungen konnte erreicht werden, daß nach Abblasen des Methanols mit Preßluft eine bestimmte Glycerinmenge verblieb, die während einer 30minutigen Lagerung in einem Feuchtraum von 80% relativer Feuchte unter Luftumwälzung mit einem kleinen Propeller eine reproduzierbare Wassermenge aufnahm. Ein Ersatz des Glycerins durch Formamid ergab eine weitere Steigerung der Ansprechempfindlichkeit, allerdings auf Kosten der Reproduzierbarkeit, da Formamid Wasser wesentlich weniger fest bindet, als es bei Glycerin der Fall ist.

Bei dieser Arbeitstechnik waren die sich ergebenden Schwankungen der Anzeige bei mittelharten Papiersorten — etwa 2043b von Sch. & Sch. oder 388 „hart" der Spezialpapierfabrik Niederschlag/Erzgebirge — kleiner als bei extrem harten. Andererseits konnten auf besonders harten Papieren, z. B. auf 2045a von Sch. & Sch., noch kleinere Substanzmengen nachgewiesen werden.

An die Homogenität der Papiersorten werden bei der Hochfrequenzpapierchromatographie recht hohe Anforderungen gestellt. Den letzten Ansprüchen bei quantitativen Arbeiten genügten nach unseren bisherigen Erfahrungen nur Sch. & Sch.-Papiere.

Was die Nachweisbarkeit verschiedener Substanzen auf dem Streifen anbetrifft, wird von Hashimoto und Mori[1] im Sinne abnehmender Nachweisgrenzen folgende Reihe angegeben:

Anorganische wasserlösliche Substanzen — organische Säuren — organische Basen — Zucker und Glucoside — Terpenoide — Steroide.

In dieser Zusammenstellung fällt auf, daß neben Elektrolyten auch Nichtelektrolyte enthalten sind, besonders auch Stoffe, die sich in ihrer Dielektrizitätskonstanten (DK) nur recht wenig von der Cellulose unterscheiden. Wir konnten in keinem Falle mit der beschriebenen Meß-

anordnung Nichtelektrolyte in den Konzentrationen auf den Streifen nachweisen, wie sie unter praktischen Verhältnissen in der Papierchromatographie auftreten können. Dazu ist noch festzustellen, daß die benutzte Meßtechnik betont auf Ableitungsverluste anspricht. Kleine kapazitive Änderungen durch unvermeidliche Inhomogenitäten des Papiers oder durch Schwankungen im Anlegen der federnden Gegenelektrode des Meßkondensators werden dabei überdeckt und stören nicht. Bei rein kapazitiven Meßvorgängen, wie sie beim Nachweis von Nichtelektrolyten die bestimmende Rolle spielen, treten diese kleinen Fehler stark in den Vordergrund, zumal, wenn noch versucht wird, durch gesteigerte Ansprechempfindlichkeit der Meßanordnung auch kleine Substanzmengen niedriger DK zu fassen.

Für Elektrolyte geben die genannten japanischen Autoren eine Reihe abnehmender Nachweisbarkeit an:

Silbernitrat — Kaliumnitrat — Calciumchlorid — Bariumchlorid — Acetate — Kaliumsulfat — Natriumsulfat — Quecksilberchlorid.

Wir führten unsere Versuche mit anderen Substanzen durch und konnten folgende Reihe aufstellen:

Kaliumchlorid — Ammoniumchlorid — Natriumacetat — Ammoniumacetat — Magnesiumsulfat — Pantothensäure — Ascorbinsäure.

Auf dem Papier Sch. & Sch. 2045a konnten z. B. noch 30 μg Natrium- oder Ammoniumacetat gut nachgewiesen werden. Bei Alkalichloriden liegt die Nachweisgrenze unter 10 μg.

Ein praktisches Beispiel für die Form einer Registrierkurve wird in Abb. 8 (S. 98)gegeben.

Daß mit der Hochfrequenzpapierchromatographie in bekannter Weise R_f-Werte bestimmt werden können, wurde schon von Hashimoto und Mori angegeben und bedarf keiner weiteren Erklärung. Es soll hier aber noch über Versuche zur quantitativen Auswertung der Registrierdiagramme berichtet werden.

Die Zusammenhänge zwischen dem Gitterstrom eines schwingenden Quarzoscillators und den Ableitungsverlusten eines in den Kreis eingeschalteten Meßkondensators sind recht kompliziert und teilweise nur empirisch zugängig. Es war deshalb von vornherein nicht zu erwarten, daß zwischen der Fläche eines durch das Auftreten einer Zone bewirkten Gitterstromminimums und der Konzentration des aufgetragenen Elektrolyten ein einfacher Zusammenhang besteht. Zur Eichung wurden deshalb Streifen mit bekannten Substanzmengen vermessen, wobei die vom Gitterstromminimum eingeschlossenen Flächen mit einem Planimeter der Fa. Ott, Kempen, bestimmt wurden.

Abb. 7 (S. 98) zeigt als Beispiel eine für KCl-Lösung erhaltene Eichkurve.

Derart aufgenommene Eichkurven sind stark von der Wahl des Arbeitspunktes auf der Gitterstromkurve des Oscillators abhängig

(s. Abb. 4, S. 94). Gleichzeitig spielt die Präparationstechnik der Streifen eine entscheidende Rolle, wobei verständlicherweise auch die sonstigen Arbeitsbedingungen der Meßanordnung konstant zu halten sind. Bei einiger Erfahrung lassen sich bei stärkeren Elektrolyten im Konzentrationsbereich von 10—300 μg die aufgetragenen Substanzmengen bis auf $\pm$ 20% reproduzieren, so daß die Arbeitstechnik zumindest den Charakter einer guten halbquantitativen Methode annimmt. Abb. 8 gibt noch einen Eindruck von einer praktisch gelaufenen Alkalitrennung. Am Start wurden je 100 μg Kalium, Natrium und Lithium als Chlorid aufgetragen und das Chromatogramm nach der Streifenmethode aufsteigend mit Methanol laufen gelassen. Nach der beschriebenen Präparation wurde der Streifen vermessen. Es ergab sich eine Registrierkurve nach Abb. 8a. Nachträglich wurden die einzelnen Zonen durch Besprühen mit einer Lösung von Fluorescein und Silbernitrat sichtbar gemacht (Abb. 8b).

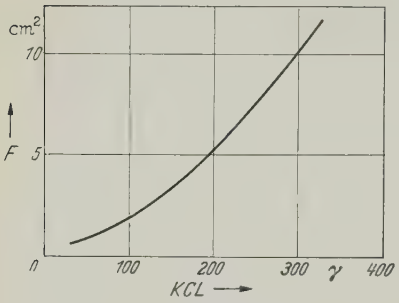

Abb. 7. Beispiel einer Eichkurve

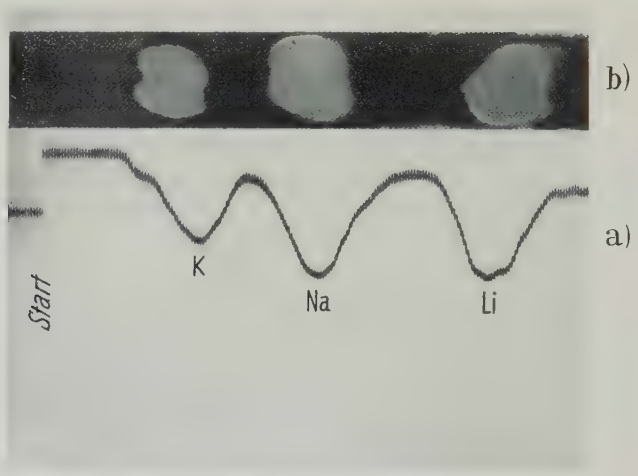

Abb. 8. Papierchromatographische Alkalitrennung; a) Registrierkurve (die Registrieranordnung wurde bei Durchlaufen des Starts eingeschaltet), b) Entwicklung der Zonen mit Silbernitrat/Fluorescein

Nach dem bisher Gesagten ergeben sich Anwendungsmöglichkeiten für die Hochfrequenzpapierchromatographie überall dort, wo Elektrolytgemische zu trennen sind, ohne daß nach der üblichen Arbeitstechnik Farbreaktionen zum Nachweis der Zonen herangezogen werden können

oder mögliche Farbreaktionen keine quantitative Auswertung zulassen. Es ist z. B. möglich, in der Kaliindustrie die Analyse von Abraumsalzen nach der neuen Methode durchzuführen. Ebenso sollten sich Phosphatgemische (Waschmittelindustrie!) nach einer normalen papierchromatographischen Trennung bestimmen lassen. Ganz allgemein ist für die anorganische Analyse eine Einsatzmöglichkeit der Hochfrequenzpapierchromatographie besonders für Salze der Alkalien und Erdalkalien zu erwarten. Einige Anwendungsversuche wurden von uns auch an organisch-pharmazeutischen Präparaten durchgeführt. Ohne daß aus den wenigen Messungen ein endgültiger Schluß gezogen werden kann, soll doch festgestellt werden, daß mit abnehmender Elektrolytnatur auch rasch die Anwendungsgrenzen des Verfahrens erreicht werden. So lassen sich Penicilline (als freie Säuren) praktisch nicht mehr erfassen.

Allgemein ist festzustellen, daß die Methode im Anwendungsfalle bei Reihenuntersuchungen lohnend eingesetzt werden kann und dann auch gute Ergebnisse liefert, da häufige Eichkontrollen durchgeführt werden können. Für Einzeluntersuchungen dürfte bereits der relativ große apparative Aufwand eine Grenze setzen.

Der Ähnlichkeit halber sei hier noch auf die von DE VRIES[5] beschriebene „konduktometrische Papierchromatographie" hingewiesen. Bei automatischem Streifentransport macht sich jedoch eine zeichnerische Darstellung der Meßwerte erforderlich.

Zusammenfassung

Es wurde gezeigt, daß die von HASHIMOTO und MORI angegebene subjektive Methode der Hochfrequenzpapierchromatographie zu einem Registrierverfahren ausgebaut werden kann. Die im Chromatogramm vorhandenen elektrolythaltigen Zonen bewirken Ableitungsverluste des Meßkondensators und werden durch Gitterstrommessungen eines Quarzoscillators nachgewiesen. Mit einer Kompensationsschaltung unter Anwendung eines Gleichstromverstärkers können Registrierkurven eines Schleifenoscillographen ausgewertet werden. Halbquantitative Auswertungen sind möglich, wenn durch eine bestimmte Präparationstechnik der Chromatogramme definierte Feuchtigkeitsmengen auf den Streifen festgelegt werden können. Entgegen den Angaben der japanischen Autoren konnte die Methode mit Erfolg nur zum Nachweis stärkerer Elektrolyte herangezogen werden.

Literatur

[1] HASHIMOTO, Y. and I. MORI: J. pharmac. Soc. Japan **72**, 1532 (1952); vgl. diese Z. **140**, 286 (1953). — [2] HASHIMOTO, Y., and I. MORI: Nature (London) **172**, 542 (1953). — [3] OEHME, F., u. OEHME M.: Z. Naturforsch. **10b**, 72 (1955). — [4] OEHME, F.: Chemische Analysen durch Messung von Dielektrizitätskonstanten, Leipzig 1953. — [5] DE VRIES, G.: Nature (London) **173**, 735 (1954); vgl. diese Z. **144**, 120 (1955).

Chemie-Ing. F. OEHME, Jena, Beuthenbergstraße 11

Oceanografiska Institutet, Göteborg

Eine rasche Präzisionsbestimmung von Kalk in kleinen Sedimentmengen

Von

F. Koczy und **H. Titze**

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 8. November 1955)

Einleitung

Die für die Carbonatanalyse von Sedimenten anwendbaren Methoden gehen alle von der Freisetzung des Kohlendioxyds auf nassem Wege, also durch Säure, aus. Es ist dann möglich, entweder die verbrauchte Säure oder das entstehende Kohlendioxyd zu bestimmen. Im ersten Fall handelt es sich lediglich um eine acidimetrische Titration. Für die Ermittlung des entstandenen Kohlendioxyds hingegen gibt es drei Möglichkeiten. Daher stehen im ganzen folgende Methoden zur Verfügung:

A. 1. Acidimetrische Methoden,
B. 1. Gasvolumetrische Methoden,
   2. Gravimetrische Methoden,
   3. Alkalimetrische Methoden.

Gripenberg[3] hat nun auf dem erstgenannten Prinzip die acidimetrische Carbonatanalyse aufgebaut. Es konnte im Verlauf der Arbeit gezeigt werden, daß die Genauigkeit der gewöhnlichen acidimetrischen Bestimmung gering ist. Dafür verantwortlich ist die Salzsäure, die die Tonkomponente der Sedimente, wenn auch zu geringem Teil, auflöst, und ferner die Ionenaustauschfähigkeit der Tonminerale. Durch letzteren Effekt werden wechselnde Anteile von Wasserstoff-Ionen der Säure gebunden, und somit ein höherer Carbonatwert vorgetäuscht. Diese beiden störenden Einflüsse konnte Gripenberg durch Anwendung eines Essigsäure-Bariumacetatgemisches so weit unterdrücken, daß sie die Genauigkeit der Resultate nicht mehr beeinträchtigen. Die Rücktitration der Essigsäure erfolgt mit Bariumhydroxyd elektrometrisch, wobei der Äquivalenzpunkt nicht erreicht zu werden braucht. Auch die Bariumhydroxydlösung enthält Bariumacetat, damit die Barium-Ionenkonzentration während der Titration annähernd gleich groß bleibt. Es wird dann mittels eines p_H-Meters ein Wert zwischen p_H 7 und 8 abgelesen. An Hand von Kurven läßt sich die Calciumcarbonatmenge in Milligrammen aus dem Verbrauch an Bariumhydroxydlösung und erreichtem p_H-Wert ermitteln.

Etwas umständlicher gestaltet sich die Bestimmung der jeweiligen Korrektur. Sie ergibt sich aus den geringen Abweichungen der Maßlösungen von der vorgeschriebenen Normalität. Auch die genaue Titerstellung der Essigsäure und vor allem der Bariumhydroxydlösung erweist sich als zeitraubend. Es war GRIPENBERG nicht möglich, die ausgearbeitete Methode an einem größeren Untersuchungsmaterial zu erproben. Bei unseren Arbeiten mit den Sedimenten erschien es zweckmäßig, unter den letztgenannten Gesichtspunkten einige Ergänzungen hinzuzufügen.

Die acidimetrische Bestimmung von Calciumcarbonat im Acetatpuffer

Die Überlegung, die zur Erfassung des Carbonats als Calciumcarbonat im Acetatpuffer führt, fußt auf folgender Beziehung (GRIPENBERG[3])*:

$$k_a = \frac{c_A \cdot a_H}{c_{HA}}. \tag{1}$$

Die Dissoziationskonstante in 1 n Bariumacetatlösung k_a ist durch die Konzentration des Acetat-Ions c_A, die Aktivität des Wasserstoff-Ions a_H, und durch die Konzentration der undissoziierten Säure c_{HA} gegeben. a_H wurde statt c_H eingefügt, da bei den p_H-Bestimmungen gemäß seiner Definition $p_H = -\log a_H$ die Wasserstoff-Ionenaktivität gemessen wird. Daher ist auch $k_a \neq k_c$, der Konzentrationsdissoziationskonstanten.

Die Dissoziation der Essigsäure in der Bariumacetatlösung ist so gering, daß man die durch sie entstehenden Acetat-Ionen vernachlässigen kann. Folglich kann die Acetat-Ionenkonzentration der des Bariumacetats c_s gleichgesetzt werden:

$$c_A = c_s. \tag{2}$$

Die Konzentration der undissoziierten Säure c_{HA} setzt sich aus der der freien Essigsäure c_{TA} und jener, die durch Hydrolyse des Bariumacetats gebildet wird, zusammen. Nach dem Hydrolysengleichgewicht

$$\text{Acetat}^- + \text{HOH} = \text{undiss. Essigsäure} + \text{OH}^- \tag{3}$$

kann man für den letzteren Anteil die Konzentration der OH^--Ionen einsetzen:

$$c_{HA} = c_{TA} + c_{OH}. \tag{4}$$

Andererseits gelten auch die folgenden Beziehungen:

$$c_H \cdot c_{OH} = k_w; \quad a_H = y_H \cdot c_H, \tag{5}$$

wenn y_H der Aktivitätskoeffizient des Wasserstoff-Ions ist. Schließlich sei noch eine Konstante k'_w eingeführt:

$$k'_w = k_w \cdot y_H. \tag{6}$$

* Die folgenden Ableitungen sind der Originalarbeit von GRIPENBERG[3] entnommen.

Durch Kombination der Gleichungen (4), (5) und (6) ergibt sich:

$$c_{HA} = c_{TA} + \frac{k'_w}{a_H}. \tag{7}$$

Nach Einsetzen der für c_A und c_{HA} erhaltenen Beziehungen in (1) ist k_a definiert durch:

$$k_a = \frac{c_s \cdot a_H}{c_{TA} + k'_w/a_H}. \tag{8}$$

Die Konzentration des Hydroxyl-Ions ist klein, verglichen mit der der Essigsäure. Der Ausdruck k'_w/a_H braucht bei der Berechnung des Carbonats nicht berücksichtigt zu werden. Der dadurch verursachte Fehler beträgt bei Erreichen des Äquivalenzpunktes, und damit der höchsten OH-Ionenkonzentration, gerade 0,1 mg. Die Gleichung (8) vereinfacht sich zu:

$$k_a = \frac{c_s}{c_{TA}} \cdot a_H. \tag{9}$$

Folgende Symbole werden noch angewandt:

Q Milliäquivalente (bzw. Milligramme) Carbonat in der Probe, berechnet als $CaCO_3$
a Titer der Essigsäure
b Titer der Bariumhydroxydlösung
v_0 Anfangsvolumen in Milliliter
A_0 Milliäquivalente der für die Zersetzung angewandten Essigsäure
v Verbrauch an Bariumhydroxydlösung in Milliliter

Die Konzentration des Gesamtacetats wird durch Auflösung von Q Milligramm Carbonat und Verbrauch von v Milliliter Bariumhydroxyd auf $(Q + bv)$ vermehrt. Das Gesamtvolumen beträgt dann $(v_0 + v)$ Milliliter.

$$c_s = 1 + \frac{Q + bv}{v_0 + v} = \frac{v_0 + v + Q + b_v}{v_0 + v}. \tag{10}$$

Die Gesamtkonzentration der nach der Auflösung des Carbonats verbleibenden freien Essigsäure ergibt sich zu:

$$c_{TA} = \frac{A_0 - Q - bv}{v_0 + v}. \tag{11}$$

Durch Einsetzen von (10) und (11) in (9) erhält man:

$$k_a = \frac{v_0 + v + bv + Q}{A_0 - Q - bv} \cdot a_H = \text{konst.} \tag{12}$$

Vor Auswertung dieser Gleichung muß die Konstanz von k_a und dessen Größe ermittelt werden. Voraussetzung hierfür ist in erster Linie eine genaue Reproduzierbarkeit der Messung von a_H bzw p_H. Die anderen Größen sind auf üblichem Wege bestimmbar. Vor allem sei auf die Temperatur- und Luftdruckabhängigkeit des p_H-Wertes hingewiesen. Erstere erfordert eine Überprüfung der Temperaturkorrektion des p_H-Meters mit geeigneten Puffergemischen bei verschiedenen Temperaturen, und damit gegebenenfalls die Aufstellung einer zusätzlichen Korrektur.

Die Temperaturabhängigkeit des Acetatpuffers wurde von uns nach der Methode von NYNÄS[5] bestimmt. Zu diesem Zweck mußte zuerst der Fehler der eingebauten automatischen Temperaturkorrektion mittels verschiedener Puffer von bekannter Temperaturabhängigkeit gemessen werden. Die Temperaturabhängigkeit des Acetatpuffers in der angewandten Konzentration von Essigsäure und Bariumacetat ergab sich bei p_H-Werten unter 7 zu 0,0015/°C, was mit der Bestimmung GRIPENBERGS übereinstimmt, da die letzte Dezimale sicher auf 2 ungenau ist. Die Messungen wurden mit einem p_H-Meter von Beckman Modell G, Kalomelelektrode 1170 und Glaselektrode 1190 ausgeführt.

Die Druckabhängigkeit geht aus folgendem Zusammenhang hervor:

$$E = \frac{RT}{2F} \cdot \ln \frac{p_1}{p_2}. \qquad (13)$$

Sinkt also der Luftdruck z. B. von 760 auf 750 mm Hg, so ist vom p_H-Wert 0,025 abzuziehen (WEISSBERGER[6]).

Logarithmiert man Gleichung (12), so erhält man die Funktion:

$$p_K - p_H = \ln (A_0 - Q - bv) - \ln (v_0 + v + bv + Q), \qquad (14)$$

die GRIPENBERG graphisch auswertete, wobei die folgenden Standardbedingungen zugrunde gelegt wurden:

Angewandte Essigsäuremenge 3 Milliäquivalente, daher ein Ausgangsvolumen von 30 ml; Titer der Bariumhydroxydlösung 0,1 n.

$$A_0 = 3; \quad v_0 = 30; \quad b = 0{,}1 \text{ n}.$$

Die Kurvenscharen geben aus dem Verbrauch an Bariumhydroxydlösung und dem abgelesenen p_H-Wert unmittelbar die Calciumcarbonatmenge in Milligrammen.

Korrektur für die Abweichungen von den Standardbedingungen

Da es praktisch nicht möglich ist, die erforderlichen Maßlösungen ganz genau in der vorgeschriebenen Stärke zu bereiten, ist es notwendig, die sich ergebenden Abweichungen zu berücksichtigen. Wenn

$$\Delta A_0 \neq 0 \quad \Delta b \neq 0 \quad \Delta v_0 \neq 0 \quad \text{ist,}$$

$$\text{so wird:} \quad \Delta Q = \alpha \Delta A_0 - \beta \Delta v_0 - v \Delta b, \qquad (15)$$

wobei α und β Parameter sind, gegeben durch:

$$\alpha = \frac{1}{1 + a_H/k_a}; \quad \beta = 1 - \alpha; \qquad (16)$$

ΔQ Calciumcarbonatkorrektur in Milliäquivalenten
ΔA_0 Die Abweichung von A_0 bei Ausführung der Titration
Δv_0 Die Abweichung vom vorgeschriebenen Volumen (30 ml)
Δb Die Abweichung der Bariumhydroxydlösung von 0,1 n.

Wenn nun verschiedene Mengen Calciumcarbonat unter sonst konstanten Bedingungen (Volumen des Puffers, Normalität der Lösungen)

gelöst und titriert werden, soll daher innerhalb der Konstanz von α und β das ΔQ eine lineare Funktion von v sein. Es ist aus diesem Grunde nicht notwendig, die Normalitäten genau zu bestimmen, sondern man kann aus der Abhängigkeit des ΔQ von v die Korrektion erhalten. Es reichen hierfür etwa 5—7 Calciumcarbonattitrationen eines analysenreinen Präparates vollkommen aus. Mit der so gefundenen Kurve hat man für die folgenden Proben eine bequeme Ablesung der Korrektur in der Hand.

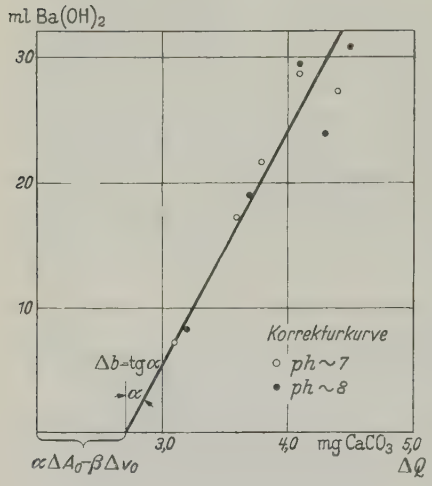

Abb. 1. Figur der Korrekturkurve

Es wurden bei jeder Probe zwei verschiedene p_H-Werte abgelesen: der erste bei ungefähr p_H 7, der zweite in der Nähe von p_H 8. Nach Gripenberg liegt der genaueste Meßbereich des p_H-Wertes zwischen 6,8 und 8. Hier ist zu beachten, daß α und β p_H-abhängig sind:

	α	β
p_H 7	0,99685	0,00315
p_H 8	0,99968	0,00032

Diese Variation der beiden Parameter α und β kann vernachlässigt werden, solange $\Delta v_0 \sim 0$ ist.

Die Calciumcarbonatkorrektur ΔQ wurde dann in Milligramm graphisch gegen den Verbrauch an Bariumhydroxyd in Milliliter aufgetragen (Abb. 1).

Verwendet man zur Ermittlung der Korrekturkurve einen falschen p_K-Wert, so erhält man zwei Kurvenzüge, nämlich einen für die niedrigen p_H-Werte und einen zweiten für die hohen. Somit gilt als Kriterium für einen richtigen p_K-Wert das Streuen der Meßpunkte um eine Gerade innerhalb der Fehlergrenzen der Methode.

Ein falscher p_K-Wert ändert

$$\alpha = \frac{1}{1 + a_H/k_a} \quad \text{zu} \quad \alpha' = \frac{1}{1 + a_H/k'_a}. \tag{17}$$

Löst man die Gleichung (12) nach Q auf, so erhält man:

$$Q = \frac{A_0 - a_H/k_a\,(v_0 + v)}{1 + a_H/k_a} - bv. \tag{18}$$

Durch Einführung der beiden Parameter α und β:

$$\alpha = \frac{1}{1 + a_H/k_a}; \quad \beta = \frac{a_H/k_a}{1 + a_H/k_a} \tag{19}$$

wird Gleichung (18) zu:

$$Q = \alpha A_0 - \beta (v_0 + v) - bv. \tag{20}$$

Nach Einsetzen von $\beta = 1 - \alpha$ ist Q schließlich gegeben durch:

$$Q = \alpha (A_0 + v_0 + v) - (v_0 + v) - vb. \tag{21}$$

Der tatsächliche Vorgang bei der Korrektionsbestimmung der Standardtitration wird daher bestimmt durch:

$$Q' = \alpha' (A_0 + v_0 + v) - (v_0 + v) - vb. \tag{22}$$

Aus Gleichung (15) wird für $\Delta v_0 = 0$:

$$\Delta Q = \alpha \Delta A_0 - v \Delta b. \tag{23}$$

Durch Vereinigung der Beziehung (21) mit (23) erhält man das Gesamtcarbonat (bekannt durch Einwaage) Q_{gesamt}:

$$Q_{\text{gesamt}} = Q + \Delta Q = \alpha (A_0 + \Delta A_0 + v_0 + v) - (v_0 + v) - v(b + \Delta b). \tag{24}$$

$\Delta Q'$ ergibt sich durch Subtraktion der Gleichung (22) von der Gleichung (24):

$$\Delta Q' = (\alpha - \alpha') (A_0 + v_0 + v) - v \Delta b + \alpha \Delta A_0. \tag{25}$$

Die zusätzliche Korrektion ϑQ, die auf Grund eines falschen p_K-Wertes entsteht, bekommt man durch Subtraktion von (23) von (25):

$$\vartheta Q = (\alpha - \alpha') (A_0 + v_0 + v). \tag{26}$$

Man sieht, daß ϑQ von v abhängig ist. Bei konstantem p_H-Wert liegen alle ϑQ auf einer Geraden, deren Steigung von a_{II}/k_a abhängig ist. Wurde das richtige k_a für die spezielle Versuchsanordnung angewandt, so wird $\alpha - \alpha' = 0$ und damit $\vartheta Q = 0$. Bei der Bestimmung der Korrektionskurve liegen dann alle ΔQ auf einer Geraden, unabhängig davon, bis zu welchem p_H-Wert titriert wurde.

Es empfiehlt sich sehr, bei laufenden Bestimmungen jeden zweiten oder dritten Tag zwei Kontrolltitrationen mit Calciumcarbonat (p. a.) durchzuführen. Bei Übereinstimmung dieser mit der Korrekturkurve hat man die Gewähr, daß die p_H-Apparatur klaglos funktioniert.

Beim Aufsuchen der Calciumcarbonatmenge Q in den Kurven von Gripenberg (Abb. 2, S. 106) ist es notwendig, den Wert von $p_H - p_K$ zu ermitteln. Wir fanden einen etwas höheren p_K-Wert, als die Verfasserin in ihrer Arbeit angibt, nämlich 4,65 gegen 4,50. Aus diesem Grunde ist es am sichersten, den p_K-Wert jeweils selbst genau zu bestimmen und wie erwähnt die Differenz zu bilden.

Um befriedigende Resultate zu erhalten, scheint es uns angebracht, auf zwei wesentliche Voraussetzungen hierfür hinzuweisen. Eine restlose

Auflösung des in der Probe enthaltenen Calciumcarbonats ist nur dann möglich, wenn das Material genügend fein verteilt vorliegt und mit der Essigsäure innig in Berührung kommt; denn die geringe Dissoziation der

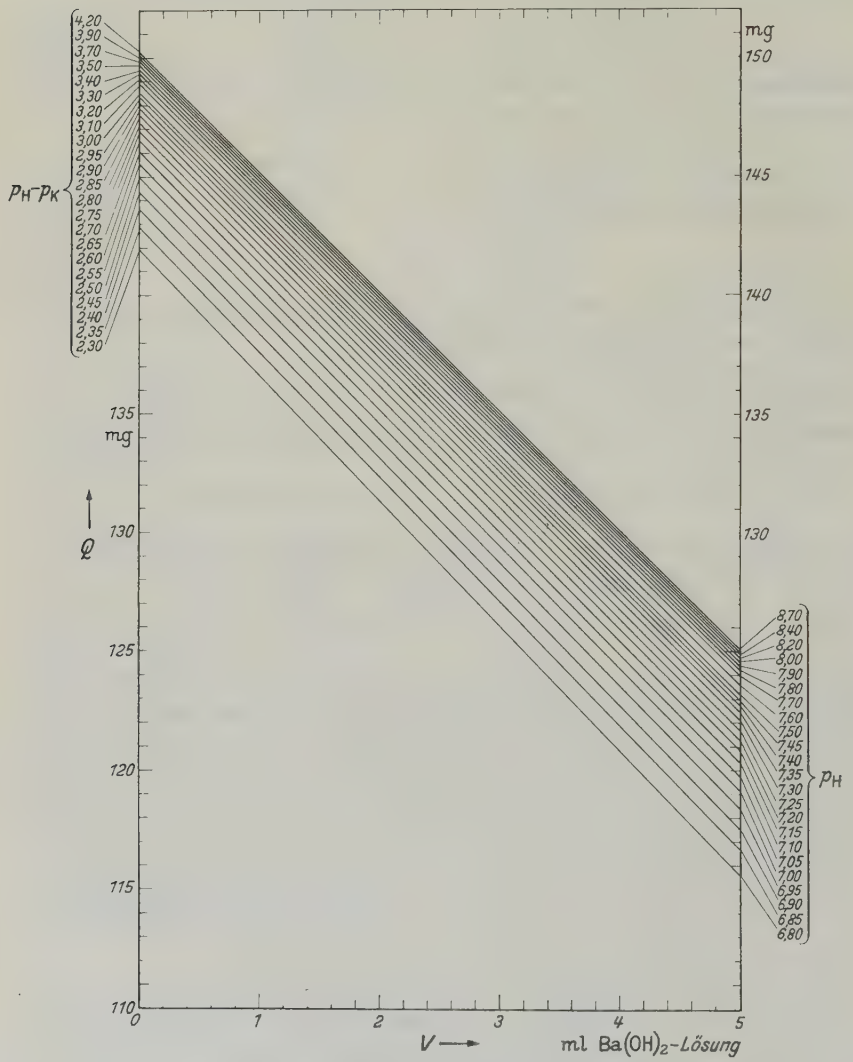

Abb. 2. Titrationskurven nach Gripenberg

Säure wird durch die Bariumacetatlösung zusätzlich verkleinert. Die zweite Voraussetzung ist die vollständige Entfernung des bei der Auflösung des Calciumcarbonats in der Lösung verbliebenen Restes der Kohlensäure. Zur Erreichung dieser beiden Bedingungen erwies sich am

besten das Durchleiten eines CO_2-freien Luftstromes, wobei das Schütteln unterbleiben kann. Wie die unten angegebenen Blindwerte zeigen, sind bei Einhalten der gegebenen Vorschrift Verluste an Essigsäure nicht zu befürchten. Es wurden zwei Bariumacetat-Essigsäuregemische ohne Calciumcarbonatzusatz titriert:

15 min 5 Blasen/sec — 0,2 mg $CaCO_3$
30 min 5 Blasen/sec + 0,1 mg $CaCO_3$

Einfluß von Tonmineralen auf die Genauigkeit der Bestimmung

Das uns zur Verfügung stehende Probenmaterial für die Carbonatbestimmungen, die Tiefseesedimente der schwedischen „Albatross"-Expedition, setzt sich im wesentlichen aus wechselnden Mengen von Tonmineralen und Zeolithen, Calciumcarbonat, organischen Substanzen und Alkalichloriden zusammen.

Tabelle 1

	H-1 %	*H*-26 %
SiO_2	60,96	45,48
TiO_2	0,08	0,86
Al_2O_3	18,27	38,84
Fe_2O_3	2,83	0,19
FeO	0,14	—
MnO	—	—
MgO	2,96	0,17
CaO	0,10	0,24
Na_2O	1,44	0,24
K_2O	0,31	0,42
H_2O^+	6,56	13,66
H_2O^-	(6,78)	(0,71)
	100,43	100,81

Die vorliegende Methode zur Erfassung des Carbonats basiert auf der Unterdrückung des Ionenaustausches der Tonmineralkomponente des Sediments während der Analyse. Es ist daher leicht einzusehen, daß die Genauigkeit der Analyse nur mit vollkommener Ausschaltung dieses störenden Effektes gewährleistet ist.

Wir unterzogen daher zwei definierte Tonminerale, einen Kaolinit (Bezeichnung *H*-1) und einen Montmorillonit (Bezeichnung *H*-26), einer Untersuchung in dieser Richtung. Ihre chemische Zusammensetzung geht aus Tab. 1 hervor.

Nach Jasmund[4] beträgt die Ionenaustauschfähigkeit für Kaolinite bis zu 12 Milliäquiv./100 g Mineral und für Montmorillonit bis zu 150 Milliäquiv./100 g. Grim[2] gibt für erstere 3—15 Milliäquiv./100 g und für letztere 80—150 an.

Verschiedene Mengen der Minerale mit und ohne Calciumcarbonat wurden der Titration unterworfen. Die Tab. 2 und 3 (S. 108) geben die erhaltenen Resultate wieder.

Aus den Analysen geht hervor, daß sich bei dem Kaolinit kein störender Einfluß bemerkbar macht. Der Montmorillonit jedoch ergibt in allen Proben einen höheren Carbonatwert. Es kann also hier der Austausch der H-Ionen trotz hoher Bariumacetatkonzentration nicht mehr restlos

unterdrückt werden. Der Fehler, in Calciumcarbonat angegeben, übersteigt nicht 1% der Einwaage von Tonmineral. Der Montmorillonitgehalt unseres Probenmaterials ist gering (Correns[1]). Es liegt infolgedessen

Tabelle 2. *Kaolinit H-1*

Einwaage in mg	$CaCO_3$ (p. a.) in mg	wiedergefundenes $CaCO_3$ in mg	Differenz $CaCO_3$ in mg
153,2	—	— 0,5	— 0,5
311,2	—	— 0,2	— 0,2
151,3	60,6	60,9	+ 0,3
76,1	75,8	75,5	— 0,3
74,1	26,8	26,8	± 0,0

Tabelle 3. *Montmorillonit H-26*

Einwaage in mg	$CaCO_3$ (p. a.) in mg	wiedergefundenes $CaCO_3$ in mg	Differenz $CaCO_3$ in mg
149,7	—	+ 1,1	+ 1,1
309,5	—	+ 1,4	+ 1,4
150,6	53,2	54,9	+ 1,7
75,3	75,0	75,4	+ 0,4
77,2	29,0	29,4	+ 0,4

hier die Ionenaustauschfähigkeit wesentlich unter der des reinen Montmorillonits. Daher können wir zusammenfassend feststellen, daß bei unseren Sedimentanalysen ein Fehler, der seine Ursache im Ionenaustausch hat, nicht zu befürchten ist.

Fehlerabschätzung

Aus den bei unseren Bestimmungen erhaltenen Korrekturkurven (Abb. 1, S. 104) geht hervor, daß der Fehler ± 0,3 mg Calciumcarbonat nicht übersteigt. Die überwiegende Mehrzahl der Werte liegt unter ± 0,2 mg Abweichung. Hierbei wurden Mengen von 1,4—111 mg analysenreinem, sorgfältig getrocknetem Calciumcarbonat angewendet. Trotz des oben angegebenen Bereiches ist es im Interesse der Genauigkeit gelegen, die Carbonatmenge von 10—100 mg zu bemessen. Unterhalb 10 mg steigt der Fehler über 3% des Gesamtcarbonats an. Über 100 mg erfolgt die Zersetzung durch die Essigsäure sehr langsam, außerdem läßt sich die Kohlensäure nur schwer restlos entfernen. Es lag nicht im Sinne der Methode, größere Mengen Carbonat zu bestimmen; vielmehr war es unsere Absicht, mit möglichst wenig Probenmaterial größte Genauigkeit zu erzielen, dabei aber die Bestimmung selbst in kurzer Zeit durchführbar zu gestalten. Die Größe der Einwaage richtet sich natürlich nach dem Carbonatgehalt der Probe.

Durchführung der modifizierten Methode

Erforderliche Lösungen:

0,2 n Essigsäure; 2,0 n Bariumacetatlösung (255,5 g wasserfreies Salz/l); 0,1 n Bariumhydroxydlösung (15,8 g/l), enthaltend 1 Äquivalent Bariumacetat (127,7 g wasserfreies Salz/l).

Von den angeführten Lösungen werden annähernd gleiche Volumina verbraucht, so daß man alle drei immer gleichzeitig erneuern kann. Die 0,2 n Essigsäure läßt sich leicht durch Verdünnen von analysenreinem Eisessig und darauffolgende Titration mit 0,1 n Natronlauge herstellen. Wir titrierten in der Hitze bei Gegenwart von Phenolphthalein mit Fixanalnatronlauge auf schwach rosa. Vor Bereitung der Bariumacetatlösung ist es vorteilhaft, sich vom tatsächlichen Bariumgehalt des Salzes zu überzeugen. Besonders das Hydrat zeigt in seiner Zusammensetzung beträchtliche Abweichungen. Für die Bariumhydroxydlösung kann man um ein Geringes mehr Salz als erforderlich verwenden, da es immer wechselnde Mengen Carbonat enthält. Nach dem Auflösen läßt man einige Tage bis zur vollkommenen Klärung stehen und dekantiert dann vorsichtig ab. Es ist nicht mehr notwendig, die umständliche Titerstellung der Lauge durchzuführen.

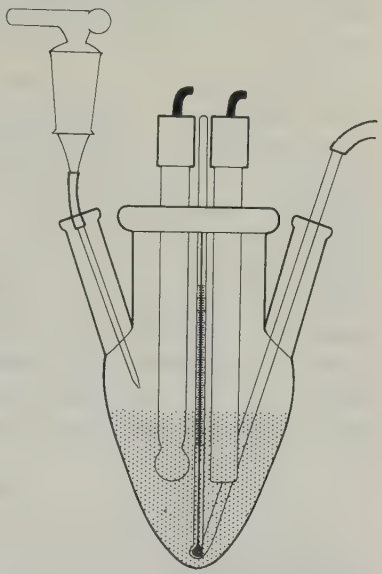

Abb. 3. Jenaer Weithalstitrationskolben

Wir wollen nachdrücklichst darauf hinweisen, daß das Probenmaterial fein vermahlen sein soll, um eine quantitative Zersetzung durch die Essigsäure zu gewährleisten.

Zur Vornahme einer Titration versetzten wir die Probe mit 15 ml Essigsäure und 5 ml Bariumacetatlösung. Hierauf wurde während 10 min ein CO_2-freier Luftstrom von 5 Blasen je Sekunde durchgeleitet; dann wurden, ohne diesen zu unterbrechen, die restlichen 10 ml Bariumacetatlösung hinzugefügt. Nach weiteren 5 min wurde mit der Titration begonnen. Wenn die Lösung vollkommen CO_2-frei war, muß sie 20 min nach Beendigung der Bestimmung noch vollkommen klar sein.

Die Titration wurde in Jenaer Weithalskolben (100 ml) mit zwei seitlichen Ansatzröhren und ausgezogenem Boden vorgenommen (Abb. 3). In passend ausgehöhlte Holzklötzchen gestellt, erhielten die Kolben ausreichende Standfestigkeit. Die CO_2-freie Luft entnahmen wir einer Preßluftbombe mit Reduzierventil, nachdem wir uns überzeugt hatten, daß sie keine Kohlendioxydspuren enthielt.

Zusammenfassung

Von S. Gripenberg war eine acidimetrische Carbonatanalyse beschrieben worden, deren Anwendungsbereich sich hauptsächlich auf solche Substanzen erstreckt, die beträchtliche Mengen von Tonmineralen enthalten und daher eine gewöhnliche Titrationsbestimmung nicht zulassen.

Die Carbonatzersetzung erfolgt dabei in einer Acetatpufferlösung (bei p_H 5), wodurch die Auflösung der Tonkomponente verhindert wird. Die Titration nach Gripenberg wird bei gleichbleibender hoher Bariumacetatkonzentration (1 n) durchgeführt, wodurch der Austausch ein- oder zweiwertiger Kationen unterdrückt wird. Außerdem braucht die Titration nicht bis zum Endpunkt geführt zu werden, sondern kann in einem größeren p_H-Bereich abgebrochen werden. Kurven erlauben dann die Bestimmung der vorhandenen Carbonatmenge aus Verbrauch an Titerlösung und dem dabei erreichten p_H-Wert.

In unserer vorliegenden Arbeit wird die Methode nach Gripenberg weiter ausgebaut. Auf Grund der Tatsache, daß die Korrektur für Abweichungen von den Standardbedingungen eine lineare Funktion des Verbrauches an Bariumhydroxyd ist, ließ sich eine einfache und bequeme Ermittlung dieser ableiten. Die zeitraubende Titerstellung der Barytlauge erübrigt sich. Einige Calciumcarbonattitrationen ergeben den p_K-Wert und gestatten es, eine Korrekturkurve daraus abzuleiten.

Um eine Kontrolle über die Reproduzierbarkeit des p_K-Wertes zu erhalten, wurde die Temperaturabhängigkeit des Acetatpuffers gemessen.

Schließlich konnte durch Untersuchungen definierter Tonminerale festgestellt werden, daß Fehler infolge Ionenaustausches für unser Probenmaterial (Tiefseetone) bedeutungslos sind.

Literatur

[1] Correns, C. W.: Wiss. Ergeb. d. deutschen Atl. Exped. Meteor. Bd. 3, Teil 3., S. 283 (1935). — [2] Grim, R. E.: Clay Mineralogy, p. 128 (1953). — [3] Gripenberg, S.: Meddelanden från Oceanografiska Institutet i Göteborg. 22. Göteborgs Kungl. Vet. Vitterh.-Samhälles Handl., 7. Följden. Ser. B. Bd. 6. No. 9. Acidimetric Carbonate Analysis (1953). — [4] Jasmund, K.: Die silikatischen Tonminerale, S. 27 (1955). — [5] Nynäs, O.: Finska Kemistsamfundets Medd. 48, 129 (1939). — [6] Weissberger, A.: Physical Methods of Organic Chemistry, Vol. II, p. 1066 (1946).

Dr. F. Koczy, Göteborg 4 (Schweden), Stigbergstorget 8

Aus dem Institut für Silicathüttenkunde der Bergakademie Freiberg/Sachsen
(Direktor: Prof. Dr. Th. Haase)

Notizen zur Cerimetrie. III*

Bemerkungen zur cerimetrischen Mikrobestimmung von Antimon nach der Methode von Rathsburg

Von
Armin Petzold

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 25. November 1955)

Wie H. Rathsburg[3] erstmalig gezeigt hat, läßt sich dreiwertiges Antimon bei Zimmertemperatur ohne Anwendung eines Katalysators mit Cer(IV)-sulfat titrieren, wenn die Analysenflüssigkeit genügend salzsauer ist. Der Autor gibt an, daß die Lösung 15 Vol.-% konz. Salzsäure enthalten müsse. Der Endpunkt wird potentiometrisch oder mit Methylrot bzw. Methylorange als Indicator bestimmt.

Die Angaben sind von N. H. Furman[1] nachgeprüft und dahingehend erweitert worden, daß das Volumen an konz. Salzsäure ein Sechstel bis ein Drittel der Analysenflüssigkeit ausmachen muß. Als Indicator wird Methylorange vorgezogen.

Rathsburg sowie Furman arbeiten mit größeren Antimonmengen und titrieren mit 0,1 n Cer(IV)-sulfatlösung; die Analysenflüssigkeiten sind rein salzsauer. Bei der Bearbeitung toxikologischer und forensischer Probleme, auf die die hier mitgeteilten Untersuchungen zurückgehen, handelt es sich aber zumeist um die Bestimmung sehr kleiner Antimongehalte in Gegenwart von Weinsäure. Im folgenden wird gezeigt, unter welchen Bedingungen eine solche cerimetrische Mikrotitration von Antimon nach Rathsburg-Furman möglich ist.

Prinzipiell können auch sehr kleine Mengen von dreiwertigem Antimon ohne Katalysator bei Raumtemperatur in stark salzsaurer Lösung mit Cer(IV)-sulfat bestimmt werden, selbst wenn Farbindicatoren angewendet werden. Als Maßflüssigkeit ist eine 0,01 n Cer(IV)-sulfatlösung geboten, wobei infolge des normalerweise geringen Verbrauchs an Titriermittel der Blindverbrauch der Lösungsflüssigkeit und ihrer gelösten Bestandteile zu ermitteln und bei der Auswertung der Ergebnisse in Rechnung zu stellen ist. Als Indicator hat sich Methylrot (2 Tropfen einer 0,1%igen wäßrigen Lösung) besser bewährt als Methylorange.

* II. Mitteilung, diese Z. **150**, 24 (1956).

Der Umschlag von Rot nach schwach Bräunlichgelb ist deutlicher zu erkennen als der Umschlag von Methylorange. Bei langsamer Titration und kräftigem Umschwenken und angesichts der stark verdünnten Maßflüssigkeit ist eine lokale Überoxydation nicht zu befürchten. Ferroin ist, wie aus einer früheren Veröffentlichung[2] hervorgeht, unter den angegebenen Bedingungen nicht brauchbar.

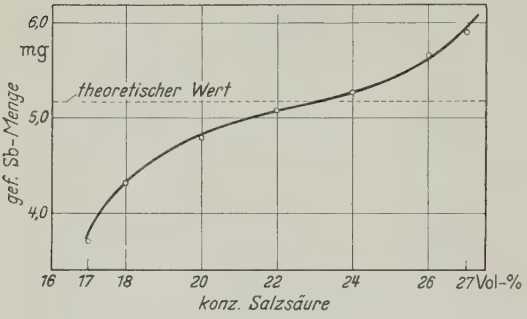

Abb. 1. Abhängigkeit der gefundenen Antimonmenge vom Salzsäuregehalt (weinsaure Lösung)

Besondere Aufmerksamkeit muß der Salzsäurekonzentration geschenkt werden. Bei unseren Versuchen hat es sich gezeigt, daß die von Rathsburg vorgeschriebenen 15 Vol.-% konz. Salzsäure nicht in jedem Falle ausreichen und daß die nach Furman erforderlichen Mengen von einem Sechstel bis einem Drittel des Analysenvolumens an konz. Salzsäure nicht genau genug angegeben sind. Bei Makrobestimmungen mögen diese grob umrissenen Konzentrationsangaben genügen, bei Mikrotitrationen ist jedoch eine genauere Abgrenzung erforderlich.

Arbeitet man in salzsaurer, weinsäurehaltiger Lösung (etwa 3%ig an Weinsäure), so ist eine deutliche Abhängigkeit der Titriergenauigkeit von der Salzsäurekonzentration unverkennbar. Tab. 1 bringt einige Ergebnisse von Reihenversuchen dieser Art. Die in der zweiten Spalte angegebenen Konzentrationen beziehen sich auf Vol.-% an konz. Salzsäure in der Analysenlösung. Trägt man die Werte graphisch auf, so erhält man ein Diagramm nach Abb. 1. Daraus geht hervor, daß nur bei einem Salzsäuregehalt zwischen 20 und 25 Vol.-% brauchbare Resultate zu erzielen sind.

Tabelle 1. *Titration von Antimon mit 0,01 n Cer(IV)-sulfatlösung in weinsaurer Lösung in Abhängigkeit vom Salzsäuregehalt*

Sb^{3+} gegeben mg	konz. Salzsäure Vol.-%	Sb^{3+} gefunden mg	Differenz mg
0,518	17	0,372	— 0,146
0,518	18	0,433	— 0,085
0,518	20	0,480	— 0,038
0,518	22	0,508	— 0,010
0,518	24	0,528	+ 0,010
0,518	26	0,546	+ 0,028
0,518	27	0,590	+ 0,072

In Tab. 2 sind Beleganalysen angeführt, die unter Einhaltung der optimalen Salzsäurekonzentration erhalten wurden. Die Ergebnisse können als recht gut angesehen werden.

Tabelle 2. *Bestimmung von Antimon mit 0,01 n Cer(IV)-sulfatlösung in salzsaurer, weinsäurehaltiger Lösung*

Sb^{3+} gegeben mg	konz. Salzsäure Vol.-%	Sb^{3+} gefunden mg	Differenz mg
0,310	23	0,296	— 0,014
0,415	25	0,432	+ 0,017
0,518	24	0,523	+ 0,005
0,518	25	0,523	+ 0,005
0,777	23	0,773	— 0,004
1,036	22	1,048	+ 0,012
1,295	23	1,290	— 0,005
1,550	23	1,545	— 0,005
2,070	24	2,090	+ 0,020

Tabelle 3. *Bestimmung von Antimon mit 0,01 n Cer(IV)-sulfatlösung in salzsaurer Lösung*

Sb^{3+} gegeben mg	konz. Salzsäure Vol.-%	Sb^{3+} gefunden mg	Differenz mg
0,490	14	0,410	— 0,080
0,490	15	0,470	— 0,020
0,980	14	0,920	— 0,060
0,049	18	0,054	+ 0,005
0,098	18	0,108	+ 0,010
0,196	17	0,213	+ 0,017
0,292	17	0,302	+ 0,010
0,341	18	0,336	— 0,005
0,440	17	0,422	— 0,018
0,490	18	0,497	+ 0,007
0,490	19	0,497	+ 0,007
0,490	21	0,505	+ 0,015
0,490	25	0,530	+ 0,040
0,490	33	0,550	+ 0,060

Bei Abwesenheit von Weinsäure ergibt sich ein ähnliches Bild. Die optimale Salzsäuremenge liegt etwas tiefer, und zwar zwischen 17 und 22 Vol.-%. Aus Tab. 3, die einige Beleganalysen enthält, erkennt man, daß die gefundenen Antimonwerte unterhalb 17 Vol.-% konz. Salzsäure zu tief, oberhalb 22% zu hoch sind.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die Antimonbestimmung nach Rathsburg auch im Bereich sehr kleiner Antimongehalte und in Gegenwart von Weinsäure gute Resultate ergibt. Es muß allerdings

beachtet werden, daß die optimale Salzsäurekonzentration höher ist als Rathsburg fordert, und in wesentlich engeren Grenzen liegt, als Furman angibt.

Literatur

[1] Furman, N. H.: J. Amer. chem. Soc. **54**, 4235 (1932); vgl. diese Z. **104**, 211 (1936). — [2] Petzold, A.: diese Z. **149**, 258 (1956); (I. Mitt.) — [3] Rahtsburg, H.: Ber. dtsch. chem. Ges. **61**, 1663 (1928); vgl. diese Z. **80**, 378 (1930).

Dr. Armin Petzold, Freiberg/Sachsen, Agricolastr. 17

Aus dem Kontroll-Laboratorium der Riedel-de Haën A.-G., Chemische Fabriken, Seelze/Hannover

Zur Extraktion und Bestimmung kleinster Mengen Nickeldimethylglyoxim mit Chloroform Anwendung des Verfahrens zur Bestimmung von Nickel in Kupfersalzen

Von

Walter Nielsch

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 29. November 1955)

Die Bestimmung kleinster Nickelgehalte, die als Verunreinigungen oder Spurenelemente vorliegen oder auch größerer Mengen Nickel bis etwa 20% in Erzen oder Metallegierungen, wird zweckmäßig nach Fällung des Nickeldimethylglyoxims durch Ausschüttelung mittels Chloroform vorgenommen. Die Nickeldimethylglyoxim-Chloroformlösung wird dann bei 366 mμ photometriert[3].

Ähnlich wie beim gewichtsanalytischen Verfahren ist die Fällung des Nickeldimethylglyoxims sowohl im schwach sauren Bereich $p_H = 6{,}5$, als auch im alkalischen Bereich bei Anwesenheit geeigneter schwacher Komplexbildner möglich.

Wird bei p_H 6,5 gearbeitet, so steht nur Dimethylglyoxim in einem organischen Mittel gelöst zur Verfügung. Im alkalischen Bereich wird vorteilhaft das wasserlösliche Natriumdimethylglyoxim verwendet[6].

Wie besondere Untersuchungen gezeigt haben, ist die Ausschüttelung des Nickeldimethylglyoxims mit Chloroform unter geeigneten Arbeitsbedingungen sehr schnell ausführbar[4]. Das Verfahren ist daher vorzüglich geeignet um in der Betriebsschnellanalyse Verwendung zu finden[5].

Dieses elegante Analysenverfahren hat bei der Spurenbestimmung seine Grenzen durch die Löslichkeit des Nickeldimethylglyoxims in Wasser und die dadurch begrenzte Ausschüttelmöglichkeit. Es muß bei gegebenen Arbeitsbedingungen eine Mindestkonzentration Nickel vorhanden sein, um überhaupt eine vollständige Extraktion zu ermöglichen. Andererseits muß bei Vorliegen von Nickel genügend Chloroform Verwendung finden, damit das Ausschüttelmittel nicht mit Nickeldimethylglyoxim gesättigt wird. Die Löslichkeit von Nickeldimethylglyoxim in Chloroform ist bereits bestimmt und liegt bei 35 μg Nickel je ml Chloroform[1, 4]. Dagegen fehlen in der Literatur Daten, unter welchen Mindestbedingungen der Nickelkonzentration noch Nickel quantitativ extrahiert und bestimmt werden kann.

Es erschien wichtig, hierzu einige Versuche zu unternehmen, zumal in kürzlichen Arbeiten zur Nickelspurenbestimmung wichtige Hinweise zur methodisch richtigen Ausschüttelung gegeben wurden, aber die Grenzbedingungen der Extraktion nicht untersucht wurden[5, 7, 8]. SANDELL[9] gibt an, daß sich noch 5 μg Nickel aus 20 ml wäßriger Phase durch mehrmalige Chloroformausschüttelung isolieren lassen. Für die praktische Verwendung in Betriebsanalysen ist aber möglichst eine einmalige Extraktion erwünscht.

Versuchsteil

Geräte: Die filterphotometrischen Messungen wurden mit dem Gerät Elko II der Firma Carl Zeiss, Oberkochen, ausgerüstet mit Quecksilberbrenner oder Glühlampe, Filter S 38 E und UV-Kondensor ausgeführt. Hierbei wird bei Benutzung des Quecksilberbrenners die monochromatische Quecksilberstrahlung bei 366 mμ und bei Benutzung der Glühlampe im Bereich von etwa 380 mμ gemessen.

Reagentien: Es fanden Präparate „für Analyse" der Firma Riedel-de Haën, Seelze/Hann., Verwendung.

Nickelstammlösung: 4,79 g Nickelsulfat ($NiSO_4 \cdot 7\ H_2O$) wurden mit Wasser auf 1000 ml aufgefüllt; 1 ml Lösung $\cong$ 1 mg Ni. Der Gehalt dieser Lösung wurde durch komplexometrische Titrationen kontrolliert.

Nickelverdünnung: 10 ml der Nickelstammlösung wurden mit Wasser auf 1000 ml aufgefüllt; 1 ml Lösung $\cong$ 10 μg Nickel.

Natriumtartratlösung, 10%ig.

Natriumacetat-Pufferlösung (p_H 6,5): 30%ige Natriumacetatlösung wurde mit 30%iger Essigsäure auf p_H 6,5 eingestellt.

Ammoniaklösung: 1 ml Ammoniak (D 0,96) wurde auf 100 ml aufgefüllt.

Hydroxylammoniumchloridlösung, 5%ig.

1%ige alkoholische Dimethylglyoximlösung.

Chloroform.

Versuchsdurchführung

In einen 100 ml-Schütteltrichter wurden jeweils 2 ml der Nickelverdünnung aus einer geeichten Mikrobürette gegeben und mit 2 ml Natriumtartratlösung versetzt. Die weitere Verarbeitung geschah nach Abschnitt A oder B (S. 116). Nach Zugabe der im Abschnitt A oder B geschilderten Hydroxylammoniumzugabe wurde mit Wasser im Schütteltrichter jeweils so aufgefüllt, daß verschieden definierte Nickelkonzentrationen vorlagen.

A) Ausschüttelung bei p_H *6,5*

Die vorstehend vorbereitete Lösung wurde mit 3 ml Natriumacetatpuffer und 1 ml Hydroxylammoniumchloridlösung versetzt (nach Zugabe von bestimmten Wassermengen), gut geschüttelt, sodann mit 2 ml Dimethylglyoximlösung versetzt und 1 min kräftig geschüttelt. Aus einer geeichten Titrierbürette gab man genau 6 ml Chloroform dazu und schüttelte wiederum 1 min kräftig. Nach Absitzen der Chloroformschicht wurde durch ein Filterpapierpolster, das sich in dem Ablaßstiel des Schütteltrichters befand, direkt in die Meßküvetten filtriert.

B) Ausschüttelung bei p_H *8—9*

Die vorbereitete Probe wurde mit 4 Tr. Ammoniaklösung und 1 ml Hydroxylammoniumchloridlösung versetzt (nach Zugabe von bestimmten Wassermengen), umgeschüttelt und nach fernerem Zufügen von 2 ml Dimethylglyoximlösung 1 min kräftig geschüttelt. Danach wurde mit 6 ml Chloroform aus einer Titrierbürette versetzt und 1 min kräftig geschüttelt. Die Weiterverarbeitung geschah wie unter Abschnitt A beschrieben.

Versuchsergebnisse

Tabelle 1. *Messung der Chloroformextrakte von gleichen Nickelmengen bei verschiedenen Nickelkonzentrationen in der wäßrigen Phase. Gemessen wurde im Elko II, mit Filter S 38 E, UV-Kondensor und Glühlampe gegen eine gleiche Blindlösung, die aber keine Nickelzusätze enthielt*

µg Ni/ml Wasser	p_H = 6,5 E	p_H 8—9 E	µg/Ni ml Wasser	p_H = 6,5 E	p_H 8—9 E
2	0,175	0,188	0,5	0,158	0,160
1	0,173	0,169	0,25	0,152	0,150

Die in Tab. 1 zusammengestellten Ergebnisse zeigen, daß die Nickelkonzentration bei p_H 6,5 und auch bei p_H 8—9 in der wäßrigen Phase mindestens 2 µg Nickel/ml betragen muß, um Nickel mit einer einmaligen Extraktion quantitativ bestimmen zu können. Diese Tatsache führt auch dazu, daß bei den Arbeitsvorschriften zur photometrischen Bestimmung des Nickels in Aluminium durch Extraktion eine Anreicherung mit Diäthyldithiocarbaminat vorgenommen werden muß[2].

Anwendung des Verfahrens zur Nickelbestimmung in Kupfersalzen

Die Bestimmungsmöglichkeit für Nickel in Kupfer und Kupferlegierungen wurde schon früher kurz beschrieben[4]. Es ist bekannt, daß Kupfer ebenfalls mit Dimethylglyoxim reagiert und die Extraktion stört. Sandell[9] empfiehlt den Nickeldimethylglyoxim-Chloroformextrakt mit verdünnter Ammoniaklösung zu waschen, um Kupfer zu entfernen. Nach eigenen Beobachtungen kann bei p_H 6,5 durch Zugabe von Natriumthiosulfat Kupfer vollständig getarnt werden, so daß bei der Nickelextraktion keine Störungen, auch nicht durch große Kupfermengen eintreten können.

Arbeitsvorschrift zur Bestimmung von Nickel im Bereich von 0,004—0,018% Nickel in Kupfersalzen

Geräte und Reagentien: Wie im Versuchsteil S. 115 bereits beschrieben.

Bestimmung: In einem 100 ml-Schütteltrichter wird 1 g des Kupfersalzes in 10 ml Wasser gelöst. Die Lösung wird mit 0,5 g Natriumtartrat und 5 g Natriumthiosulfat versetzt und bis zur vollständigen Lösung gut geschüttelt, sodann werden 5 ml Natriumacetatpufferlösung und 50 mg festes Hydroxylammoniumchlorid zugefügt. Nach jeder Zugabe wird die Lösung gut umgeschüttelt. Nach weiterem Zufügen von 2 ml Dimethylglyoximlösung wird 1 min kräftig geschüttelt. Aus einer geeichten Titrierbürette gibt man nun genau 6 ml Chloroform dazu und schüttelt wiederum 1 min kräftig. Nach dem Absitzen der Chloroformschicht wird durch ein Filterpapierpolster, das sich in dem Ablaßstiel des Schütteltrichters befindet, direkt in die Meßküvette filtriert. Man mißt in einer 1 cm-Küvette mit Filter S38E und Quecksilberlampe gegen eine Blindlösung, liest die Prozente Lichtdurchlässigkeit ab und rechnet aus einer Tabelle auf die Extinktion um. Aus der Eichkurve können nun die Nickelmengen ermittelt werden.

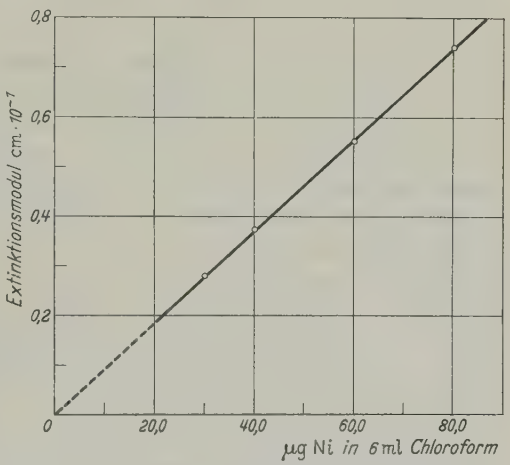

Abb. 1. Eichkurve zur Nickelbestimmung in Kupfersalzen. Gemessen im Elko II, Filter S 38 E, UV-Kondensor und Quecksilberbrenner

Aufstellung der Eichkurve

Verschiedene Nickelverdünnungen (etwa 25, 50 und 80 µg Nickel) werden in einem 100 ml-Schütteltrichter mit Wasser auf 10 ml verdünnt und wie oben angegeben weiterbehandelt. Man erhält eine geradlinige Eichkurve, die in Abb. 1 wiedergegeben ist.

Tabelle 2

Salze	Nickelgehalt des Salzes in % Ni / µg Ni	zugefügte Nickelmenge zur Ausgangssubstanz in % / µg Ni	wiedergefunden in % Ni / µg Ni
$Cu(CH_3CO_2)_2 + H_2O$	0,0009% = 9 µg	0,005% = 50 µg	0,006% = 60 µg
$Cu(NO_3)_2 + 3\ H_2O$.	0,0012% = 12 µg	0,005% = 50 µg	0,0065% = 65 µg

Arbeitsergebnisse

Folgende Kupfersalze wurden untersucht: Kupfernitrat ($Cu(NO_3)_2 + 3\,H_2O$); Kupferacetat $Cu(CH_3CO_2)_2 + H_2O$.

Da die zur Verfügung stehenden Kupfersalze nur Spuren Nickel enthielten, wurden die zu bestimmenden Nickelmengen hinzugefügt (Tab. 2). Diese Nickelmengen wurden auch nach dem Analysengang wiedergefunden.

Zusammenfassung

Es wird gezeigt, daß Nickel nach Fällung mit Dimethylglyoxim sowohl bei p_H 6,5, als auch bei p_H 8,9, mit Chloroform durch einmalige Ausschüttelung in 1 min quantitativ abgetrennt werden kann, wenn die Grenzkonzentration des Nickels mindestens 2 μg Nickel/ml in der wäßrigen Phase beträgt. Es wird ein Anwendungsbeispiel für die photometrische Nickelbestimmung in Kupfersalzen gegeben. Hierbei werden Kupfer mit Natriumthiosulfat und Eisen mit Natriumtartrat getarnt. Die Bildung von Nickel(IV)-dimethylglyoxim wird durch die Zugabe von Hydroxylammoniumchlorid verhindert. Die photometrische Auswertung erfolgt mittels der monochromatischen Lichtstrahlung der Quecksilberliniengruppe bei 366 mμ im Elko II.

Die gegebene Arbeitsvorschrift umfaßt Nickelgehalte von 0,004 bis 0,018% Nickel. Durch geeignete Abwandlung der Arbeitsvorschrift ist es möglich, sowohl niedrigere als auch höhere Nickelgehalte in Kupferverbindungen zu bestimmen.

Der Verfasser hat Frl. Inge Hagemann für die fleißige und sorgfältige Ausführung der Versuchsarbeiten zu danken.

Literatur

[1] Christopherson, H., u. E. B. Sandell: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **10**, 1 (1954); vgl. diese Z. **143**, 62 (1954). — [2] Ginsberg, H.: Leichtmetallanalyse, S. 112, Verlag Walter de Gruyter & Co. Berlin, 1955. — [3] Nielsch, W.: diese Z. **140**, 267 (1953). — [4] Nielsch, W.: diese Z. **143**, 272 (1954). — [5] Nielsch, W.: Vortrag, Hauptversammlung der Gesellschaft Deutscher Metallhütten- und Bergleute, Bonn 1953; Z. Erzbergbau Metallhüttenwes. 8, 369 (1955). — [6] Nielsch, W., u. L. Giefer: Vortrag, Mikrochemietagung, Wien 1955, demnächst in Mikrochim. Acta. — [7] Oelschläger, W.: diese Z. **146**, 339 (1955). — [8] Oelschläger, W.: diese Z. **146**, 346 (1955). — [9] Sandell, E. B.: Colorimetric Determination of Traces of Metals, p. 373, Intersci. Publishers, New York and London 1950.

Dr. Walter Nielsch, Seelze/Hannover, Hannoverschestr. 33

Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie

IV. Spezielle analytische Methoden

2. Auf Handel, Industrie und Landwirtschaft bezügliche

Literatur. Medicus-Reuther: *Kurze Anleitung zur technisch-chemischen Analyse. Mit Übungsbeispielen zum Gebrauch beim Unterricht in chemischen Laboratorien.* Sechste, verbesserte Auflage, bearbeitet von H. Reuther. XII, 231 Seiten mit 57 Abbildungen im Text. Verlag von Theodor Steinkopff, Dresden und Leipzig 1955. Preis kart. 9,— DM.

Gegenüber der 5. Auflage[1] ist die vorliegende 6. Auflage durch Aufnahme eines Abschnittes über Flammenphotometrie und verschiedener genormter Untersuchungsverfahren in begrüßenswerter Weise erweitert worden. Das Büchlein wird seine Aufgabe im Praktikum der technisch-chemischen Analyse wie bisher bestens erfüllen.

H. Ginsberg: *Leichtmetallanalyse.* Dritte, wesentlich verbesserte und neu bearbeitete Auflage. XIX, 285 Seiten mit 79 Abbildungen. Verlag von Walter de Gruyter & Co., Berlin 1955. Preis Ganzleinen 24,80 DM.

Die unter Mitarbeit von F. E. Faller, E. Steuer, F. W. Wrigge und A. Böhm fertiggestellte 3. Auflage des Werkes von Ginsberg hat gegenüber den vorhergehenden Auflagen[2] starke Änderungen erfahren. Zu den in der 1. Auflage allein behandelten Hauptmetallen Aluminium und Magnesium sind entsprechend ihrer zunehmenden Wichtigkeit Beryllium und Titan hinzugekommen. Eine unerwünschte Erweiterung des Umfanges des Werkes konnte aber trotzdem vermieden werden, weil man auf der anderen Seite gewisse Kapitel (Untersuchung von Schmelz- und Hilfsstoffen, Trennungsgänge von Legierungen) streichen und auch manche zeitraubenden und daher wenig benutzten Bestimmungsverfahren ausscheiden konnte. Die Gliederung der behandelten Methoden erfolgt in der neuen Auflage nicht mehr nach Arbeitsweisen, sondern nach den zu bestimmenden Elementen. Für jedes Element werden nur wenige ausgewählte Verfahren gebracht, wobei die neuen komplexometrischen, spektrophotometrischen und polarographischen Verfahren gebührende Berücksichtigung finden. Wie früher, so wird auch in der neuen Auflage Wert darauf gelegt, nach Möglichkeit nur solche Verfahren aufzunehmen, für welche genügend eigene Erfahrungen vorliegen oder bei denen der Name des Autors für Zuverlässigkeit bürgt. Das Werk kann deshalb jedem bestens empfohlen werden, der einschlägige Untersuchungen durchzuführen hat. Bedauerlich ist, daß sich in der vorliegenden Auflage fast keine Hinweise mehr auf die Originalliteratur vorfinden. Gerade bei neuen Verfahren, die noch nicht Eingang in die üblichen Lehr- und Laboratoriumsbücher gefunden haben, ersparen aber gute Literaturzitate dem Benutzer viel Zeit und Mühe, wenn er Näheres über die ihn interessierende Methode erfahren will. Vielleicht kann der Mangel bei einer Neuauflage wieder beseitigt werden.

G. Masing: *Grundlagen der Metallkunde in anschaulicher Darstellung.* Vierte, verbesserte und erweiterte Auflage. VI, 153 Seiten mit 140 Abbildungen. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1955. Preis 12,60 DM.

[1] Vgl. diese Z. **134**, 444 (1951/52).

[2] Besprechung der 1. Auflage, vgl. diese Z. **122**, 431 (1941).

Die 1940 erstmalig erschienenen „Grundlagen der Metallkunde" liegen nun bereits in der 4. Auflage vor. Sie vermitteln dem Leser in knapper Form ein klares Bild über die eigentümlichen Eigenschaften der Metalle, den Aufbau der Legierungen, über die Gefügeänderungen im festen Zustande, die Vorgänge bei der thermischen Behandlung, der plastischen Verformung, über die Rekristallisation und schließlich über das chemische Verhalten gegenüber nichtmetallischen Angriffsmitteln. Bei der überragenden Bedeutung der Metalle und Legierungen sollte jeder Chemiker die Grundzüge der Metallkunde beherrschen. Das vorliegende, von einem ausgezeichneten Fachmann geschriebene Büchlein ermöglicht das notwendige Studium. A. KURTENACKER

Eine Methode zur Bestimmung kleiner Mengen Zink in Aluminiumlegierungen durch elektrolytische Abscheidung und gleichzeitige radiometrische Verdünnungsanalyse beschreiben K. THEURER und T. R. SWEET[1]. Das Verfahren hat gegenüber den üblichen Methoden den Vorteil, daß eine quantitative Abscheidung des Zinks nicht notwendig ist. Es muß nur ein wägbarer Anteil des reinen Metalls erhalten werden. — *Radioaktive Zinklösung.* Etwa 0,5 ml einer $^{65}ZnCl_2$-Lösung aus Reaktorbestrahlung (etwa 2,8 mC/ml) werden mit doppelt destilliertem Wasser auf 2 Liter aufgefüllt. — *Inaktive Zinklösung.* Von einer $ZnSO_4$-Lösung (in redestilliertem Wasser) mit gravimetrisch als $Zn_2P_2O_7$ festgestelltem Gehalt werden Anteile mit 4—16 mg Zn zur Aufstellung der Eichkurve verwendet. — *Eichkurve.* Man gibt jeweils 10 ml der aktiven Zn-Lösung zu verschiedenen Volumina der inaktiven Zn-Lösung, neutralisiert mit 30%iger Natronlauge, gibt noch 10 ml davon im Überschuß zu, verdünnt mit Wasser auf 45 ml, versetzt mit 7 Tropfen Aceton und füllt in die Elektrolysierzelle (Abb. 1). Diese enthält als Kathode eine Kupferscheibe, die man vorher mit Salpetersäure (1:1), Alkohol und Äther gewaschen, bei 70° C getrocknet und dann gewogen hat. Nach 15 min dauernder Elektrolyse bei 4,0 V behandelt man die Kathode wieder wie beschrieben, wägt und zählt aus unter Zwischenlegung eines Absorbers von 225 mg Al/cm². Man berechnet die spezifische Aktivität (S.A.) aus der Gesamtaktivität A und den Gewichten W des inaktiven Zinks und w des aktiven Zinks zu S.A. = A/(W + w). Durch Umformung erhält man W = A (1/S.A.) — w. Trägt man W gegen 1/S.A. auf, so ergibt sich die Eichkurve als gerade Linie. — *Zn-Bestimmung in Aluminiumlegierungen.* Etwa 1 g der 1 bis 2% Zn enthaltenden Legierung wird in 25 ml 15%iger Natronlauge unter Erwärmen gelöst. Nach Zugabe von 30 ml Wasser, 30 ml Schwefelsäure (1:1) und 5 ml 3%iger

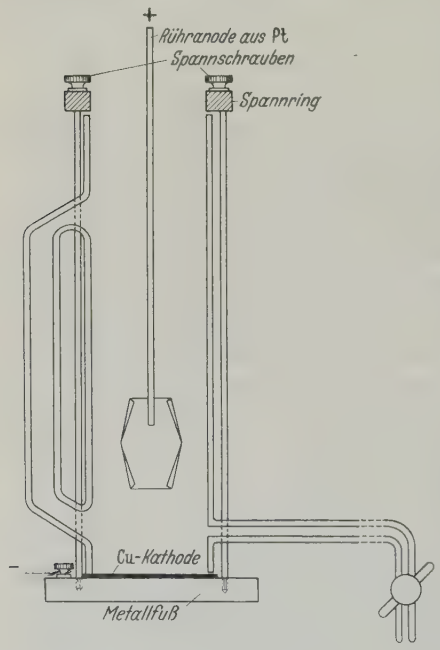

Abb. 1
Elektrolysierzelle nach THEURER und SWEET

[1] Analyt. Chemistry **25**, 119—121 (1953). State Univ. Columbus, Ohio (USA).

Wasserstoffperoxydlösung wird zum Sieden erhitzt und ein etwa auftretender Rückstand durch Abdekantieren und Digerieren mit einigen Tropfen konz. Salpetersäure in Lösung gebracht. Zu den vereinigten Lösungen gibt man 10 ml der aktiven Zinklösung, kühlt auf 10° C und fügt tropfenweise unter Rühren einen mindestens 100%igen Überschuß von 6%iger Kupferronlösung zu. Man zentrifugiert, dekantiert die klare Lösung ab, fügt 10 ml 30%ige Natronlauge über die zur Neutralisation notwendige Menge zu, versetzt noch mit 1 ml Aceton und elektrolysiert 10 min bei 7 bis 8 Volt auf eine verkupferte Platinnetzelektrode. Nach Unterbrechung der Elektrolyse löst man den Niederschlag in 20 ml Schwefelsäure (1 : 1), scheidet das Kupfer an einem eingehängten Streifen Reinaluminium in der Hitze ab, filtriert unter Zugabe eines Stückchens Aluminium durch ein Papierfilter und behandelt das Filtrat zur Zinkbestimmung bzw. der Bestimmung der spezifischen Aktivität wie bei der Aufstellung der Eichkurve beschrieben. — In Al-Legierungen mit 1,5% Zn betrugen die Fehler 2%, bei 0,02% Zn 5,6%. F. Weigel

Die Aktivierungsanalyse von Spurenverunreinigungen in Silicium mit Hilfe der Scintillationsspektrometrie beschreiben G. H. Morrison und J. F. Cosgrove[1]. Die Methode ist besonders zur Erfassung der sehr geringen Verunreinigungen geeignet, die die Halbleitereigenschaften von nachgereinigtem Silicium beeinflussen können. Das Prinzip des Verfahrens ist das Folgende: Die zu untersuchenden Proben werden drei Tage mit einem starken Neutronenstrom ($\sim 3{,}4 \cdot 10^{12}$ Neutronen/sec/cm^2) bestrahlt und einige Stunden stehengelassen, so daß etwa gebildetes $^{31}Si(T_{1/2} = 2{,}6$ Std) abklingen kann. Dann ätzt man mit einem Gemisch von konz. Kalilauge und 30%igem Wasserstoffperoxyd an, um Oberflächenverunreinigungen zu beseitigen. Die so vorgereinigten Proben werden zerkleinert und im Scintillationsspektrometer in der z. B. von R. E. Connally und M. B. Leboeuf[2] beschriebenen Weise gemessen. Die im Schreibsystem des Spektrometers registrierten Impulsmaxima werden ausgemessen und gestatten eine quantitative Bestimmung der Verunreinigungen. Das Verfahren ist auf Aktivitäten mit 2 Std $\leqslant T_{1/2} \leqslant 200$ Tagen anwendbar. Für die meisten Elemente werden Empfindlichkeiten von 0,001—1 μg erreicht. Die Bestimmung von *Na, K, Fe, Zn, As, Ta und W in Silicium*, sowie die Bestimmung von *Cu* und *Cr* in *Aluminium-Standardlegierungen* wird beschrieben. Wegen Einzelheiten muß auf das Original bzw. auf die ausführliche Arbeit von Connally und Leboeuf[2] verwiesen werden. F. Weigel

Zur Bestimmung von Blei in Bleilegierungen und Bleischlacken empfehlen J. L. Pinkston und Ch. T. Kenner[3] die komplexometrische Titration[4] nach der Fällung als Sulfat und Auflösung des $PbSO_4$-Niederschlages in Ammoniumacetatlösung. Die Titration soll bei höherer Temperatur durchgeführt werden. Der durchschnittliche relative Fehler bei reinem Blei beträgt weniger als 0,5‰, die Standardabweichung bei der Analyse einer Serie von Bleischlacken 0,106%. Die Verwendung von Kaliumcyanid zur komplexen Bindung störender Metalle ist nicht notwendig, da durch die Art der Vorbereitung alle etwa störenden Elemente außer Barium (verursacht zu niedrige Werte) und Calcium (zu hohe Werte) in zufriedenstellender Weise entfernt werden. — *Arbeitsvorschrift.* Man erhitzt die zu untersuchende Probe (mit 0,40—0,48 g Pb) in einem Erlenmeyer-Kolben mit 20 ml Schwefelsäure und

[1] Analyt. Chemistry **27**, 810—813 (1955). Sylvania Electric Products, Inc., Bayside, N. Y. (USA).

[2] Analyt. Chemistry **25**, 1095 (1953); vgl. diese Z. **142**, 215 (1954).

[3] Analyt. Chemistry **27**, 446—447 (1955). Southern Lead Co., Dallas, Tex. (USA).

[4] Flaschka, H.: Diese Z. **137**, 172 (1952); Mikrochem. verein. Mikrochim. Acta **39**, 38, 315 (1952); vgl. diese Z. **137**, 453 (1952/53); **138**, 272 (1953).

etwas Filterpapier (zur Erleichterung der Reduktion und Auflösung von Antimon) und zerstört durch Zusatz einiger Tropfen konz. Salpetersäure zur heißen Lösung die Filterpapierreste und sonstige organische Substanz. Nach dem Abkühlen wird auf 200 ml verdünnt, 2 g Weinsäure werden zugesetzt und die Lösung gekocht. Nach erneuter Abkühlung wird filtriert, gründlich mit kalter Schwefelsäure gewaschen, der Niederschlag samt Filter in das ursprüngliche Gefäß zurückgegeben und mit 30 ml Ammoniumacetatlösung (454 g/1000 ml) gekocht. Nachdem sich Bleisulfat vollständig gelöst hat, gibt man 200 ml Wasser, 2 g Weinsäure und 25,0 ml konz. Ammoniumhydroxydlösung zu, erhitzt die Lösung auf 70—80° C und titriert mit Standard-KomplexonIII-lösung (18,6 g/l; 1 ml entspricht etwa 10,0 mg Pb; Einstellung erfolgt gegen reines Pb) unter Verwendung von Eriochromschwarz T als Indicator (0,20 g in 50 ml Äthanol). Der Endpunkt wird durch einen scharfen Umschlag von Rosa nach Blau angezeigt. H. Schmidt, Wiesbaden

Phenol-Formaldehydharze. E. H. Chipperfield und H. Busfield[1] bestimmen *Hexamethylentetramin in härtbaren Phenol-Formaldehydharzen* (*Novolaken*) zwar auf prinzipiell bekannte Weise durch Titration des Wasserextraktes mit Mineralsäure, aber um das zeitraubende Filtrieren der wäßrigen Aufschlämmung des feingepulverten Lackes zu vermeiden, titrieren sie die durch Dekantieren nur unvollständig geklärte, wäßrige Lösung konduktometrisch. Überschüßiges freies Phenol stört dabei nicht. Nach den im Original mitgeteilten Beleganalysen mit eingewogenen Mischungen von Novolaken und Hexamethylentetramin sind die Ergebnisse sehr gut.

Zum Nachweis von Füllstoffen in Phenol-Formaldehyd-Kunstharzerzeugnissen ändern J. Haslam und R. V. Hill[2] das Verfahren von W. Esch und R. Nitsche[3], welches bisher nur auf schwachgehärtete Produkte anwendbar war, so ab, daß es auch für hochgehärtetes Material brauchbar ist. Die Verbesserung besteht darin, daß beim Aufschließen des feingepulverten Kunststoffs mit 1- oder 2-Naphthol bei 160—180° C die Mischung nicht wie bisher in Ruhe bleibt, sondern daß durch ständiges Rotieren des Reaktionsgefäßes eine vollständige Umsetzung des Harzes mit dem geschmolzenen Naphthol ermöglicht wird. 0,1 g gemahlenes Untersuchungsmaterial und 5 g 2-Naphthol werden in ein 30 cm langes und 1,3 cm weites Pyrexglasrohr eingeschmolzen und unter dauerndem Drehen 4 Std auf 160—180° C erhitzt. Nach dem Abkühlen löst man das überschüssige Naphthol und die Umsetzungsprodukte mit Äthanol, wäscht den Rückstand (= Füllstoff) mit Äthanol und Äther und trocknet ihn. Die meisten Füllstoffe, wie Holzmehl, Kokosnußschalenmehl, Glas, Asbest und Baumwolle, erkennt man leicht unter dem Mikroskop. Nylonfäden löst man in 90%iger Ameisensäure, stellt einen Film daraus her und prüft diesen im ultraroten Gebiet. Neoprenfüllstoffe ergeben einen gummiartigen, chlorhaltigen Rückstand, von dem man aus Benzollösung einen Film gießt und diesen ebenfalls durch sein Ultrarotspektrum identifiziert. F. Neumann

In einer vorläufigen Mitteilung berichtet E. Zichy[4] über die *Verdünnungspapierchromatographie und ihre Anwendung bei der Untersuchung von Phenol-Formaldehydharzen*. Auf Grund der Annahme, daß die Harze bildenden Verbindungen in Wasser-Acetonmischungen von der Acetonkonzentration abhängig verschiedene Löslich-

[1] Analyst (London) **78**, 617—619 (1953). Norton Grinding Wheel Co., Ltd., Welwyn Garden City, Herts. (England).

[2] Analyst (London) **80**, 317 (1955). Imp. Chem. Ind. Ltd., Welwyn Garden City, Herts. (England).

[3] Kunstharze **8**, 249 (1938).

[4] Magyar Kemiai Folyóirat **61**, 91—92 (1955) [Ungarisch]. (Mit engl. Zus. fass.).

keit aufweisen, wurde versucht, die acetonische Lösung während des Anlaufens andauernd zu verdünnen, indem durch eine Capillare ständig Wasser zugetropft wurde. Es gelang so, die harzbildenden Verbindungen in zwei Gruppen zu teilen; die eine reduziert ammoniakalische Silbernitratlösung zu Silber, die andere bildet mit diazotierter Sulfanilsäure verschiedene Farben. Zu Beginn laufen die Verbindungen mit der Lösungsmittelfront, während des Verdünnens laufen die silbernitratreduzierenden Verbindungen mit einem R_f-Wert von 0,7—0,8 weiter, die übrigen bleiben stehen, d. h. der R_f-Wert ist 0. Die Flecke dieser Verbindungen sind für die verschiedenen Harze charakteristisch. Vorausgesetzt, daß die weniger Methylolgruppen enthaltenden Verbindungen mit höherem Molekülgewicht schon bei größerer Acetonkonzentration unlöslich werden, gelang es, die Feststellungen von K. G. Goldblum[1] zu bestätigen. J. Plank

Mischungen von Buna N mit Phenolharzen kann man nach F. F. Bentley und G. Rappapo.rt[2] mittels der Ultrarotspektren ihrer Pyrolyseprodukte analysieren. 2 g Untersuchungsmaterial erhitzt man bei vermindertem Druck (2 mm Hg) im Verlaufe von 15 min auf 550° C. Die flüchtigen Zersetzungsprodukte kondensieren sich in einer mit festem Kohlendioxyd gekühlten Falle. Man löst sie mit Aceton-Chloroform (30:70 Vol) heraus, verdampft das Lösungsmittel, bringt den teerigen Rückstand zwischen Steinsalzplatten von 0,05 mm Abstand und nimmt das Ultrarotspektrum zwischen 2 und 16 μ auf. — Stellt man sich Eichkurven mit bekannten Phenolharz- und Acrylnitrilgehalten her, indem man die Absorptionen bei 2,95 und 4,48 μ mißt, so kann man die Zusammensetzung unbekannter Mischungen annähernd ermitteln. F. Neumann

Die Analyse von Polybutadienen und Butadien-Styrol-Copolymeren durch Ultrarotspektroskopie empfiehlt J. L. Binder[3]. Man kann den Gehalt an cis-1,4, trans-1,4 und 1,2-Additionen sowie die Menge Styrol in Butadien-Styrolcopolymeren direkt bestimmen, indem jeweils die Intensitäten der Banden 14,70; 10,34; 10,98 und 14,29 μ gemessen werden. Polybutadien wird als Mischung von drei Strukturtypen angesehen: cis-$RCH{=}CHR_1$, trans-$R_3CH{=}CHR_2$ und $CH_2{=}CHR_4$ in denen R die Polymerenketten darstellen. Nach folgender Gleichung lassen sich die Konzentrationen der gesuchten Komponenten einer Mischung spektroskopisch bestimmen:

$$D' = (e'_1c_1 + e'_2c_2 + e'_3c_3 + e'_4c_4 + \ldots) \cdot l$$

in der D die gemessene Absorption, e die Absorptivität, c die gesuchte Konzentration und l den Lichtweg bedeuten. Die Absorptivitäten wurden für die cis-1,4-Komponente von cis-4-Octen, für trans-1,4 von trans-4-Octen und für die 1,2-(Seiten-Vinyl-) Komponente von 1-Octen erhalten und in Eichkurven festgehalten. Alle Messungen wurden mit dem Beckman JR2-Spektrophotometer gemacht. Der Grad des ungesättigten Charakters von Emulsionspolymeren kann ebenso und in Übereinstimmung mit chemischen Methoden bestimmt werden. Alkalimetallkatalysierte Polymere unterscheiden sich von Emulsionspolymeren in anderer Hinsicht als die verschiedenen Doppelbindungstypen. Im Bereich 10—80% Styrol stimmt die Styrolbestimmung mit den aus den Brechungsindices erhaltenen Werten auf 1% überein. Die Methode kann auf andere Dien-Copolymere angewendet werden. R. Helmers

---

[1] Ind. Engng. Chem. **44**, 359 (1952); Chem. Zbl. **1953**, 4776.

[2] Analyt. Chemistry **26**, 1980—1982 (1954). Wright-Patterson Air Force Base, Ohio, und General Motors Corp., Dayton, Ohio (USA).

[3] Analyt. Chemistry **26**, 1877—1882 (1954). Fireston Tire & Rubber Co., Akron, Ohio (USA).

Eine Methode zur quantitativen Bestimmung von Äthylenoxyd-Addukten in ihren wäßrigen Lösungen oder Dispersionen gründet N. SCHÖNFELDT[1] auf die Beobachtung von BAEYER und VILLIGER, daß $H_4[Fe(CN)_6]$ mit Diäthyläther Additionsverbindungen gibt (Ätherate). Zu einer salzsauren Lösung der Probe wird eine bestimmte Menge $[Fe(CN)_6]^{4-}$ Standardlösung gegeben, die Fällung abfiltriert und im Filtrat das überschüssige $[Fe(CN)_6]^{4-}$ mit $ZnSO_4$-Standardlösung zurücktitriert. Aus dem Verbrauch an $[Fe(CN)_6]^{4-}$ wird an Hand von mit Eichsubstanzen aufgenommenen Kurven der Äthylenoxydgehalt bestimmt. Die Ergebnisse zeigen eine mittlere Abweichung von weniger als 8%, bei Addukten mit mehr als 9 Äthylenoxydeinheiten bleibt diese Abweichung unter 5%, was sich daraus erklärt, daß ein Molekül $H_4[Fe(CN)_6]$ zur Ausfällung von einem Addukt mit 6 Äthylenoxydeinheiten notwendig ist. Längere Ketten werden so besser gefällt als kürzere. Die Methode ist leicht zu handhaben und zur Fabrikationskontrolle geeignet. — *Ausführung.* 100 ml der zu untersuchenden Lösung mit nicht mehr als 0,3 g Äthylenoxydaddukt werden mit 10 ml Salzsäure (D 1,18) und 15 g Kochsalz versetzt. Nach Lösung des Salzes gibt man unter Schütteln 5 ml 0,25 m $K_4Fe(CN)_6$-Lösung (die 0,5 g Na_2CO_3 im Liter enthält) zu, filtriert nach einigen Minuten und wäscht mit 25 ml Waschlösung [240 g NaCl + 80 ml Salzsäure (1,18) + 840 ml Wasser]. Das Filtrat wird mit 5 ml 40%iger $(NH_4)_2SO_4$-Lösung, 5 Tropfen 2%iger $K_3Fe(CN)_6$-Lösung und 5 Tropfen 1%iger Diphenylaminlösung versetzt und mit 0,075 m $ZnSO_4$-Lösung bis zum Farbumschlag grün-blauviolett titriert. R. HELMERS

Das Verfahren zur Bestimmung anionaktiver Substanzen mit p-Toluidinchlorhydrat[2] ändert R. WICKBOLD[3] auf Grund neuer Versuche so weit ab, daß nunmehr alle anionaktiven Synthetica für sich allein, in Gemischen miteinander oder in fertigen Waschmitteln erfaßt werden können. Die Lösung muß dabei auf einen p_H-Wert unter 3 eingestellt sein, der Zusatz an Fällungsmittel soll mindestens 300 –400% der Theorie betragen, für die Löslichkeit des Fällungsmittels (p-Toluidinchlorhydrat) in Äther wird eine Ko rektur angebracht, die man durch Titration der Chlor-Ionen mit Silbernitratlösung ermittelt. Das Verfahren kann auch zur Ermittlung des Äquivalentgewichtes der waschaktiven Substanz (WAS) dienen. — *Ausführung.* Man löst eine 1—2 g WAS entsprechende Menge der Probe in etwa 80 ml Wasser, versetzt mit Salzsäure, bis Kongopapier nach Blau umschlägt, gibt 15 ml Reagens (100 g p-Toluidin + 78 ml 38%iger Salzsäure im Liter) zu und schüttelt mit 50 ml Äther aus. Das Ausschütteln wird mit 25 ml Äther wiederholt. Die vereinigten Ätherauszüge werden mit 10 ml Reagens und 40 ml Wasser durchgeschüttelt. Die wäßrigen Phasen werden verworfen oder können zur Sulfatbestimmung verwendet werden. Die Ätherauszüge werden in 100 ml Äthylalkohol gegeben, den man mit 15 Tr. 0,1%iger o-Kresolrotlösung in Methanol versetzt und mit 0,1 n Natronlauge bis zum Farbumschlag nach Violett gestellt hat. Die wieder gelb gewordene Lösung titriert man unter kräftigem Schütteln mit 0,1 n Natronlauge bis zum neuen Farbumschlag nach Violett (Verbrauch a ml). Zur Ermittlung der Chlorkorrektur gibt man der austitrierten Lösung 1 ml 10%ige K_2CrO_4-Lösung zu, stellt mit 0,1 n Schwefelsäure auf rein Gelb und titriert wie üblich mit 0,1 n $AgNO_3$-Lösung (Verbrauch b ml). Prozent WAS = $(a - b) \times$ Äquiv. Gew. von WAS/100 × g Einwaage. — *Zur Bestimmung des Äquivalentgewichtes* verfährt man wie

[1] J. Amer. Oil Chemists' Soc. **32**, 77—79 (1955). Berol Aktiebolag, Gothenburg (Schweden).

[2] STÜPEL, H., und A. SEGESSER: Fette u. Seifen **53**, 260, 327 (1951); R. WICKBOLD: Fette u. Seifen **54**, 394 (1952); vgl. diese Z. **137**, 397 (1952 53); **139**, 454 (1953).

[3] Fette u. Seifen **57**, 164—168 (1955). Chem. Werke Hüls AG, Marl/Kr. Recklinghausen.

oben, verwendet jedoch eine doppelt so große Einwaage und 25 ml p-Toluidinreagens. Die vereinigten Ätherauszüge werden im 200 ml-Meßkolben mit Äther zur Marke aufgefüllt. Eine Abnahme von 25 ml wird in einer gewogenen Kristallisierschale auf dem Wasserbad vom Lösungsmittel befreit, dann im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure bis zum konstanten Gewicht getrocknet (Auswaage c mg). 100 ml der ätherischen Lösung werden ebenso wie oben angegeben mit 0,1 n Natronlauge und anschließend mit 0,1 n $AgNO_3$-Lösung titriert (Verbrauche a ml 0,1 n NaOH-, b ml 0,1 n $AgNO_3$-Lösung). Äquiv. Gewicht des p-Toluidinsalzes $= (40c - 143{,}5b)/(a - b)$. R. Helmers

Verschiedene chemische Charakteristiken anionaktiver Waschmittel bespricht am Beispiel von *Natriumlaurylsulfat* und von *Sinnopon*, einem Alkylarylsulfonat, A. Lassieur[1]. Behandelt wird neben dem Stickstoffnachweis allgemein bei einem Waschmittel die Wirkung der Salzsäure in der Kälte und Wärme, die Wirkung des Wassers sowie das Verhalten primärer und sekundärer Alkohole. Zahlreiche Beobachtungen, von denen der Verf. annimmt, daß sie später analytisch verwertet werden könnten, sind zweckmäßig dem Original zu entnehmen. H. Freytag

3. Auf Pharmazie bezügliche Methoden

Eine neue chemische Methode zur Bestimmung von Penicillin gründen G. Tokár, I. Simonyi und Gy. Gál[2] auf die Beobachtung, daß Penicillin die Fehlingsche Lösung reduziert und dabei von den zwei im Penicillin vorhandenen Stickstoffatomen das eine (der Säureamid-Stickstoff) quantitativ Ammoniak bildet. — *Arbeitsweise.* In einem Mikro-Ammoniakdestillationsapparat werden 0,4 g Penicillin G-Kalium, oder 0,3 g Procainpenicillin G, oder 0,45 g Dibenzyläthylendiamindipenicillin G mit 40 ml Fehlingscher Lösung (1:1) langsam auf ein Fünftel eingekocht und das Ammoniak in der Vorlage in 20 ml 0,1 n Salzsäure absorbiert. Die Vorlage wird nun gesenkt, so daß das Ende des Kühlers oberhalb der Flüssigkeit steht und die Destillation mit 20 ml Wasser fortgesetzt. Das Destillat wird schließlich 3 min gekocht und gegen Methylrot mit 0,1 n Natriumhydroxydlösung titriert. 1 ml 0,1 n Salzsäure ≙ 37,23 mg bzw. 59383 NE Penicillin G-Kalium, oder 29,42 mg bzw. 29685 NE Procainpenicillin G, oder 45,43 mg bzw. 59105 NE DBED-Dipenicillin G. In Tabletten wird die Bestimmung genau so ausgeführt. Bei der Untersuchung öliger Injektionspräparate wird die geöffnete Ampulle in den Destillationsapparat gegeben und zur Verseifung des Öls mit 5 ml 30%iger Natronlauge versetzt. Um das lästige Schäumen zu vermindern, kann man 0,3 g Aluminiumsulfat zugeben oder das Öl nach Vorschrift der Pharmakopöe entfernen. Die Methode ist auch im 0,01 n Maßstab genau. J. Plank

Die spektrophotometrische Methode zur Bestimmung des Gesamt-Penicillins in Arzneipräparaten von R. M. Herriot[3] wurde von F. G. Stock[4] modifiziert. Das ursprüngliche Verfahren beruht darauf, daß angesäuerte wäßrige Lösungen von Penicillin eine Absorptionsbande bei 322 mμ entwickeln, die von einem intermediären Abbauprodukt herrührt. Von der Annahme ausgehend, daß es sich bei

[1] Chim. analytique **37**, 39—44 (1955).

[2] Magyar Kémiai Folyóirat **61**, 146—149 (1955) [Ungarisch]. (Mit dtsch. Zus.-fass.). Verein. pharmaz. Fabr., Budapest.

[3] J. biol. Chemistry **164**, 725 (1946).

[4] Analyst (London) **79**, 662—671 (1954). City Analysts Lab., Birmingham (Engl.).

diesem Abbauprodukt um eine Penicillinsäure handelt, untersuchte Verf. den Einfluß von Kupferspuren auf diese Reaktion. Dabei ergab sich, daß in Anwesenheit von Kupfer genau reproduzierbare Werte erhalten werden, im Gegensatz zu den schwankenden Ergebnissen der Originalmethode. (In einer Diskussionsbemerkung zu vorstehendem Vortrag weist D. C. GARRAT darauf hin, daß Penicillin in Tabletten und ähnlichen Zubereitungen weit einfacher durch Titration nach Zusatz von Penicillinase bestimmt werden kann. Dieses weitgehend spezifische Verfahren, zu dem kein Spektrophotometer benötigt wird, dauert nur ½ Std.) H. SPERLICH

NN′-Dibenzyläthylendiamin-dibenzylpenicillin (Benzathin-Penicillin) kann nach C. KNIGHT und W. H. STEPHENSON[1] in Eisessiglösung mit Perchlorsäure in Eisessig titriert werden (Kristallviolett als Indicator). 1 ml 0,1 n Perchlorsäure entspricht 909,1/40000 g wasserfreiem Benzathin-Penicillin. H. SPERLICH

Die Bestimmungsmethoden für ätherische Öle in Drogen wurden von U. HAGENSTRÖM[2] kritisch überprüft. Um den Einfluß verschiedener Destillationsflüssigkeiten auf das Analysenergebnis zu untersuchen, wurden verschiedene Drogen in der Apparatur der BP 53 mit Wasser, 25%iger Kochsalzlösung, 0,1 n Schwefelsäure oder 0,1 n Natronlauge destilliert. NaCl-Lösung gab in keinem Falle höhere, in den meisten Fällen dagegen niedrigere Werte als Wasser. Die Verwendung von Kochsalzlösung als Destillationsflüssigkeit ist also nicht angebracht. Bei Schwefelsäure lagen die Werte nur in einem Fall, bei Natronlauge in 2 Fällen etwas höher als mit Wasser. Wenn zum Auffangen der wasserdampfflüchtigen Öle Dekalin vorgelegt wird, so ergeben sich oft höhere Werte als ohne diesen Zusatz, da Dekalin Stoffe festhält, die infolge ihrer Wasserlöslichkeit sonst nicht erfaßt werden. In bezug auf die Einwaagen schlägt der Verf. die Anwendung von 30—100 g Droge vor. Für das Auffangrohr genügt im allgemeinen die Einteilung in 0,05 ml. Die Ölbestimmungen sollen ohne Unterbrechung abgeschlossen werden, da das ätherische Öl beim Stehen seine Viscosität stark erhöht oder verharzt.
H. KURTENACKER

Die Wertbestimmung ätherischer Öle mittels der kritischen Mischungstemperatur wird von R. FISCHER und H. RESCH[3] für die Untersuchung von Pfefferminz-, Nelken-, Thymian- und Chenopodiumöl empfohlen, nachdem Verff. bereits früher über das Prinzip dieser Methode berichtet hatten[4]. Die Bestimmung, die auf dem KOFLER-Mikroschmelzpunktsapparat durchgeführt wird, erfordert nur kleinste Mengen Öl (5—10 mg bzw. wenige Zehntel mg) und sehr wenig Zeit. Die Fehlergrenze liegt zwischen 0,25 und 0,45%. H. SPERLICH

Zur papierchromatographischen Bestimmung des Azulens im ätherischen Öl der Kamille eignet sich nach einem Hinweis von G. SCHENCK und K. H. FRÖMMING[5] die Methode von F. P. WINTERINGHAM, A. HARRISON und R. G. BRIDGES[6], nach der wasserunlösliche Stoffe an Papier getrennt werden, das mit in Äther gelöstem Paraffin getränkt ist. Einzelheiten sollen noch publiziert werden. K. CRUSE

---

[1] J. Pharmacy Pharmacol. **6**, 1002—1004 (1954). Boots Pure Drug Co., Ltd., Beeston (USA).

[2] Ätherische Öle, Riechstoffe, Parfümerien, Essenzen, Aromen **4**, 259—261 (1954).

[3] Arzneimittel-Forsch. **5**, 137—141 (1955). Univ. Graz.

[4] FISCHER, R., und H. RESCH: Naturwissenschaften **39**, 404, 504 (1952); FISCHER, R., und J. HORNER: Mikrochim. Acta **1953**, 386; vgl. diese Z. **140**, 225 (1953); **147**. 400 (1955).

[5] Naturwissenschaften **40**, 276 (1953). Pharm. Inst., Freie Univ., Berlin.

[6] Nature (London) **166**, 999 (1950); vgl. diese Z. **136**, 369 (1952).

Für die papierchromatographische Trennung der therapeutisch gebräuchlichen Oestrogenester und -äther eignet sich nach F. Markwardt[1] das Verfahren der „umgekehrten Phase" (reversed phase), bei dem hydrophobiertes Papier verwendet wird. — *Arbeitsweise.* Die Papierstreifen (Sch. & Sch. 2043b) werden in eine 5%ige Lösung von Silicon in Cyclohexan getaucht (Verf. verwendet „Aquarex" 4040, Silikon-Chemie, Dresden). Man preßt die überschüssige Lösung zwischen Filtrierpapier ab und trocknet 1 Std bei 110° C. Die Oestrogene, die aus Arzneipräparaten nach dem Verfahren von E. Huf und G. Widmann[2] mit Essigester oder Methanol extrahiert werden können, werden in Mengen von 5—50 μg, in Methanol, Essigester, Benzol oder Aceton gelöst, in üblicher Weise aufgetragen. Als Lösungsmittel dient die untere Phase des Gemisches aus 15 ml Wasser, 85 ml Methanol, 30 ml Benzol und 70 ml Hexan. Die obere Phase wird zur Sättigung in die Chromatographierkammer gegeben. Nach dem Sättigen über Nacht wird absteigend entwickelt (Laufstrecke 30—40 cm). Dann trocknet man 15 min bei 100° C, besprüht mit einer 10%igen Lösung von Antimon(III)-chlorid in Chloroform und erwärmt bei 90° C bis zum Eintritt der Farbreaktion (s. Tabelle). — Oestronbenzoat, Stilboestroldibenzoat und Dienoestroldibenzoat wandern in diesem Lösungsmittel nicht. Oestron, Oestradiol-17β, Äthinyloestradiol, Stilboestrol und Dienoestrol wandern dicht hinter der Lösungsmittelfront; sie können jedoch nach Behandlung mit Essigsäureanhydrid als Acetate getrennt werden. Das Verfahren hat sich für folgende Zwecke bewährt: Trennung des unveresterten Oestrogens vom Oestrogenester und -äther, Verfolgung der Esterspaltung, Trennung von Oestradiolmono- und -diester, Trennung von Oestron- und Oestradiolderivaten.

Oestrogen-Verbindung	nachweisbare Menge in μg	Eintritt der Farbreaktion	Farbe	R_f-Wert
Oestron	15	1—2 min	gelb	(0,85)
Oestron-acetat	20	4—5 min	gelb → braun	0,67
Oestradiol-17 β	15	sofort	orange	(0,9)
Oestradiol-3,17-diacetat .	25	4—5 min	gelb → rotbraun	0,35
Oestradiol-3,17-dipropionat	25	4—5 min	gelb	0,2
Oestradiol-3-benzoat . .	40	10 min	rosaorange	0,57
17-α-Äthinyloestradiol .	15	1—2 min	rotbraun	(0,95)
Stilboestrol	5	sofort	carmoisinrot → schwarzbraun	(0,92)
Stilboestrol-diacetat . . .	10	4—5 min	grau	0,38
Stilboestrol-dipropionat .	15	4—5 min	grau	0,24
Stilboestrol-dimethyläther	5	sofort	violett	0,15
Dienoestrol	5	sofort	carmoisinrot → schwarzbraun	(0,98)
Dienoestrol-diacetat . . .	10	4—5 min	graubraun	0,43
Dienoestrol-dipropionat .	15	4—5 min	graubraun	0,28
Dienoestrol-dimethyläther	5	sofort	violett	0,17

H. Sperlich

[1] Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **288**, 82—86 (1955). Univ. Greifswald; vgl. auch F. Markwardt, Naturwissenschaften **41**, 139 (1954); vgl. diese Z. **144**, 462 (1955).

[2] Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **274**, 88 (1942).

Bei der Papierchromatographie von Digitoxin stellten Z. KANDA und A. SEKIYA[1] fest, daß die für Digitalisglucoside charakteristische Fluorescenzreaktion mit Trichloressigsäurelösung in Chloroform[2] von einem Digitoxinpräparat des Handels nicht gegeben wurde, während sie mit einem anderen Digitoxin eintrat. Das in beiden Präparaten als Verunreinigung enthaltene Gitoxin erschien dagegen auf den Chromatogrammen als fluorescierender Fleck. Mit Hilfe der anderen Farbreaktionen auf Digitalisglucoside (nach KELLER-KILIANI, BALJET, LEGAL und RAYMOND) konnte jedoch auch in dem amerikanischen Präparat Digitoxin nachgewiesen werden. Die biologische Aktivität beider Präparate zeigte keinen nennenswerten Unterschied. Verff. nehmen an, daß es zwei Sorten von Digitoxin gibt.

H. SPERLICH

Für die papierchromatographische Trennung von Herzgiftglucosiden haben sich nach F. KAISER[3] folgende Lösungsmittelgemische besonders gut bewährt: 1. für die Glucoside der Digitoxinstufe und die Aglucone (und die Strophanthusglucoside und n-aglucone): Xylol-Methyläthylketon (1:1), gesättigt mit Formamid; 2. für die Primärglucoside: Chloroform-Tetrahydrofuran-Formamid (50:50:6,5). Die Chromatogrammstreifen werden vor dem Aufbringen der Glucoside 5 min in eine 20%ige Lösung von Formamid in Aceton eingelegt, zwischen Filtrierpapierbogen schnell abgepreßt und an der Luft getrocknet. Zur Sichtbarmachung der Flecke wird vorteilhaft das Trichloressigsäure-Chloraminreagens nach K. B. JENSEN[4] verwendet (15 Tl. 25%ige Trichloressigsäurelösung in Äthanol + 1 T. 3%ige wäßrige Chloraminlösung, frisch bereitet). R_f-*Werte*: a) mit Lösungsmittel 1: Strospesid 0,075, Digoxin 0,16, Digoxigenin 0,32, Gitoxin 0,29, Gitoxigenin 0,42, Acetyldigoxin-α 0,39, Acetyldigoxin-β 0,45, Acetylgitoxin-α 0,59, Acetylgitoxin-β 0,64, Digitoxin 0,69, Digitoxigenin 0,81, Acetyldigitoxin-γ und -β 0,90 bis 0,95, Oleandrin 0,93, Oleandrigenin 0,72, Neriifolin 0,55, Cyma in 0,55, Allocymarin 0,48, Strophantidin 0,40, Allostrophantidin 0,32, Isostrophantidin 0,76, Strophantidol 0,26, Cymarol 0,36, Emicymarin 0,11, Alloemicymarin 0,07; b) mit Lösungsmittel 2: Digitalinum verum 0,16, Digilanid C 0,33, Digilanid B 0,47, Digilanid A 0,85, Desacetyldigilanid C 0,13, Desacetyldigilanid B (Purpureaglucosid B) 0,19, Desacetyldigilanid A (Purpureaglucosid A) 0,50, Strospesid 0,61. — Zur näheren Kennzeichnung der Glucoside wird empfoh'en, diese nach der papierchromatographischen Trennung aus dem Papier zu eluieren, durch saure Hydrolyse zu spalten und die entstandenen Aglucone und Zucker wieder papierchromatographisch zu identifizieren (R_f-Werte von in Herzgiftglucosiden vorkommenden Zuckern mit verschiedenen Lösungsmitteln im Original).

H. SPERLICH

Die chemischen Methoden zur Bestimmung des Wirkungswerts von Digitalisblättern wurden von C. WOLFGRAMM und F. WEISS[5] überprüft. Verff. stellten fest, daß bei der Bestimmung der Sekundärglykoside mit Hilfe der Reaktionen nach KNUDSON-DRESBACH, RAYMOND, KEDDE und KELLER-KILIANI ausreichend übereinstimmende Werte erhalten werden. Die Einschaltung einer sogenannten Quellzeit (48stündige Anschwemmung mit Wasser vor der Chloroformextraktion) ermöglicht die fast vollständige Erfassung der Primärglykoside neben den Se-

---

[1] Jap. J. Pharmacol. **4**, 10—11 (1954) [Englisch]. Univ. Nagoya (Japan).

[2] SVENDSEN, A. B. und K. B. JENSEN: Pharmac. Acta Helvetiae **25**, 241 (1950); vgl. auch diese Z. **142**, 124 (1954).

[3] Chem. Ber. **88**, 556—563 (1955). C. F. Boehringer & Söhne, GmbH, Mannheim.

[4] SVENDSEN, A. B., und K. B. JENSEN: Pharmac. Acta Helvetiae **25**, 241 (1950); vgl. auch diese Z. **142**, 124 (1954).

[5] Pharmazie **10**, 292—300 (1955). Humboldt-Univ. Berlin.

kundärglykosiden, die nach 1½ stündiger Einwirkung von Wasser bestimmt werden. Nach Ansicht der Verff. sind die gelegentlich auftretenden Differenzen zwischen den Aglykonverfahren und der Digitoxosebestimmung in Übereinstimmung mit der Annahme von F. Neuwald und A. Diekmann[1] auf das Vorliegen freier Genine zurückzuführen, so daß daraus keine Rückschlüsse auf den Gehalt an Primärglykosiden gezogen werden können. Die Verwendung von Chloroform-Alkoholgemischen[2] zur Extraktion der Droge wird abgelehnt, da damit neben den Sekundärglykosiden auch die Primärglykoside sowie Saponine und möglicherweise störende Begleitstoffe isoliert werden. Auch die Überprüfung der Differenzmethode von J. Richter[3] ergab, daß sie nicht zur Bestimmung des Wirkungswerts von Digitalisblättern geeignet ist, weil sie im wesentlichen nur die Sekundärglykoside erfaßt und außerdem die Voraussetzung der Methode nicht zutrifft, wonach die in den gereinigten Pflanzenauszügen noch vorhandenen Begleitstoffe stets in gleicher Weise mit dem Reagens von Knudson-Dresbach reagieren sollen. H. Sperlich

Für den papierchromatographischen Nachweis des Glucosids Hellebrin empfehlen G. Schenck und H. Sadée[4] folgende *Arbeitsweise.* Das Filtrierpapier (Sch. & Sch. 2043a) wird mit der organischen Phase eines Pentanol-Wassergemisches (1:1) getränkt und zwischen Filtrierpapier abgepreßt. Nach dem Auftragen von etwa 25 μg Hellebrin entwickelt man etwa 6 Std absteigend (etwa 30 cm) mit der wäßrigen Phase des Lösungemittelgemischs und trocknet dann das Chromatogramm über Nacht zwischen Filtrierpapier. Der trockene Streifen wird dann entweder durch eine 20%ige Lösung von Antimontrichlorid in Chloroform oder nacheinander durch eine 0,5%ige Furfurollösung in peroxydfreiem Äther und durch eine Lösung von 5 Teilen Eisessig und 5 Teilen konz. Schwefelsäure[5] in 90 ml peroxydfreiem Äther gezogen und 2 min bei 90° C getrocknet. Hellebrin gibt mit dem ersten Reagens einen gelblichgrünen, fluorescierenden, mit dem zweiten Reagens einen graublauen Fleck (R_f 0,79). H. Sperlich

Bei der Papierchromatographie von reinen Lanatosid C-Standardlösungen, die zu Vergleichszwecken bei der Bestimmung der Glucoside von Digitalis lanata nach der Methode von H. Silberman und R. H. Thorp[6] verwendet wurden, beobachteten M. L. Frith und S. E. Wright[7] das Auftreten von 2 Flecken. Nach dem Besprühen mit Trichloressigsäure in Chloroform gibt der schneller wandernde diffuse Fleck eine schwach bläulichgelbe Fluorescenz, während der langsamer wandernde leuchtend blau fluoresziert. Wenn dem Sprühreagens Wasserstoffperoxyd[8] zugesetzt wird, vermindert sich die Fluorescenzintensität dieses Flecks beträchtlich, während die andere Komponente heller leuchtet. m-Dinitrobenzol reagiert nur mit der schneller wandernden Substanz, in der auch die gesamte biologische Aktivität lokalisiert ist. Nach Mitteilung der Firma Sandoz handelt es sich bei dem langsamer wandernden Fleck um Desacetyl-lanatosid C, das wegen seiner geringen Menge mit einer biologischen Methode nicht mehr nachgewiesen werden kann. H. Sperlich

[1] Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **285**, 19 (1952); vgl. diese Z. **140**, 320 (1953).

[2] Langejan, M., u. J. A. C. van Pinxteren: Pharm. Weekbl. 88, 529 (1953); vgl. diese Z. **145**, 367 (1955).

[3] Pharmazie **9**, 390 (1954); vgl. diese Z. **145**, 368 (1955).

[4] Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. 288, 101—102 (1955). Freie Univ. Berlin.

[5] Katz A.: Helv. chim. Acta **36**, 1344 (1953).

[6] J. Pharmacy Pharmacol. **5**, 438 (1953).

[7] Chem. and Ind. **1955**, 251—252. Univ. Sidney (Australien).

[8] Silberman, H., und R. H. Thorp: J. Pharmacy Pharmacol. **6**, 546 (1954).

Eine papierchromatographische Methode zur Bestimmung der Ascorbinsäure(I) in Hagebuttenextrakt wird von B. JOHANNESEN[1] beschrieben. Dabei wird I nach der papierchromatographischen Abtrennung von Begleitstoffen und dem Auswaschen aus dem Papier mit Hilfe einer von M. SCHMALL, C. W. PIFER und E. G. WOLLISH[2] aufgefundenen spezifischen Farbreaktion mit diazotiertem 4-Methoxy-2-nitroanilin colorimetrisch bestimmt. *Arbeitsweise.* 1. *Qualitativer Nachweis von I:* Man chromatographiert etwa 14 Std mit n-Butanol—Eisessig -Wasser (10:2:3) und besprüht das Chromatogramm nach dem Trocknen (Luftstrom) mit einer Mischung aus gleichen Teilen „Aminoreagens" (0,5 g 4-Methoxy-2-nitroanilin in 125 ml Eisessig gelöst und mit 10%iger Schwefelsäure auf 250 ml verdünnt) und „Nitritreagens" (0,2%ige Lösung von Natriumnitrit). Dann bläst man warme Luft auf das Chromatogramm, bis es fast trocken ist und besprüht mit 2 n Natronlauge. I gibt leuchtend blaue Flecken auf orangefarbenem Grund (R_f 0,27). 2. *Bestimmung von I:* Das Chromatographiergefäß wird mit Schwefelwasserstoffgas gesättigt, indem man in die am Boden des Gefäßes befindliche essigsaure Flüssigkeitsmischung einige Gramme Natriumsulfid gibt. Auf den Papierstreifen (Whatman Nr. 1, 46 × 17 cm) trägt man mit Hilfe einer Agla-Mikrometerpipette nebeneinander 5mal je 10 μl einer Lösung von Hagebuttenextrakt (nicht unter 0,2% I) auf und hängt ihn sofort in das Chromatographiergefäß. Nach 6 Std gibt man das Lösungsmittel in den Trog. Nach weiteren 14 Std hängt man das Chromatogramm in einen kalten Luftstrom und schneidet, bevor es ganz trocken ist, die beiden äußeren „Laufbahnen" ab. Auf diesen wird I wie unter 1. beschrieben sichtbar gemacht. Man schneidet dann die entsprechenden drei Zonen aus dem unbehandelten Mittelstreifen des Chromatogramms und als Blindprobe ein gleichgroßes Papierstück 5 cm oberhalb der Flüssigkeitsfront heraus und gibt jedes Stück in ein Reagensglas. Man gibt in jedes Glas 5 ml einer frisch bereiteten Mischung von 1 ml „Aminoreagens", 1 ml „Nitritreagens", 10 ml dest. Wasser und 96%igen Äthanol bis 50 ml, schüttelt vorsichtig um und versetzt nach 3 min mit 2 ml 6%iger Natronlauge. Nach dem Mischen photometriert man gegen die Blindprobe bei 570 mμ. — Zur Aufstellung der Eichkurve werden je 0,500, 0,750 und 1,000 g I (Merck) in frisch abgekochtem dest. Wasser von 20° C gelöst, mit 5,00 ml Eisessig versetzt und auf 50 ml mit Wasser aufgefüllt. Man fertigt für jede Lösung ein Chromatogramm mit 5 Flecken zu 5 μl an, entsprechend 50, 75 und 100 μg I, und verfährt weiter wie unter 2. beschrieben. — Nach dieser Technik wurde Hagebuttenextrakt (z. B. etwa 5 g in 2 ml Eisessig und Wasser zu 20 ml gelöst) vor und nach der Reduktion mit Schwefelwasserstoff untersucht. Dazu wurde in die Lösung unter Umrühren während 90 min H_2S eingeleitet. Dehydroascorbinsäure machte nur einen unwesentlichen Teil des Gesamtgehaltes von I aus. Die Methode gibt etwas niedrigere Werte als die üblichen Verfahren.

H. SPERLICH

Die polarographische Bestimmung von Acriflavin in Pulvern, Tabletten und Pasten wird nach A. J. ZIMMER und K. MANSUR[3] nach folgender *Arbeitsvorschrift* ausgeführt: Man löst die Probe in 0,1 m Salzsäure, so daß die Lösung höchstens 0,025% Acriflavin aber auch etwa 0,1 m KCl enthält, durchlüftet 10 min mit Stickstoff und polarographiert (t = 4,0 sec, m = 1,56 mg/sec bei 40 cm Hg-Säule). Obwohl Acriflavin ein Gemisch zweier substituierter Acridine darstellt, verhält es sich polarographisch als einheitliche Substanz, die durch zwei Stufen charakterisiert ist. In gepufferter Lösung und im p_H-Bereich von 1,1—5,5 liegt das Halbstufenpotential der 1. Stufe bei $E_{1/2}^{I} = 0{,}39 + 0{,}065\ p_H$ und ist oberhalb p_H 5,5 konstant bei 0,75 V.

[1] Pharmac. Acta Helvetiae **30**, 22—33 (1955). Univ. Oslo (Norwegen).

[2] Analyt. Chemistry **25**, 1486 (1953). vgl. diese Z. **146**, 293 (1955).

[3] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **44**, 204—206 (1955). St. Louis College, St. Louis, Mo. (USA).

Das Halbstufenpotential der 2. Stufe folgt der Gleichung $E^{II}_{1/2} = 0{,}59 + 0{,}73\ p_H$ im p_H-Bereich 1,1—8,8, ebenfalls in gepufferter Lösung. In 0,1 m Salzsäure (p_H 1,1) gilt für die Halbstufenpotentiale $E^{I}_{1/2} = 0{,}39 + 4{,}8c$ und $E^{II}_{1/2} = 0{,}59 + 4{,}8c$, d. h. beide sind dem Gehalt c an Acriflavin (in %) proportional. In 0,003—0,025%-igen Lösungen ist die Summe der Höhe beider Stufen der Konzentration proportional. — Bei Tabletten werden zweckmäßig größere Mengen gelöst, anschließend wird dann mit 0,1 m Salzsäure verdünnt. Eine Lösung von Pastenproben soll vor dem Auffüllen mit 0,1 m Salzsäure auf ein bekanntes Volumen filtriert werden. In Testanalysen werden stets mindestens 97 und höchstens 102% der Einwaage wiedergefunden. K. Cruse

Die Gehaltsbestimmung von Veramon (Verbindung aus 2 Mol Pyramidon und 1 Mol Veronal) und ähnlichen Präparaten kann nach W. Poethke und D. Horn[1] ohne vorherige Trennung der Komponenten durch zwei einfache Titrationen durchgeführt werden. Das Pyramidon wird in Chloroform mit p-Toluolsulfosäure[2], das Barbitursäurederivat in 50%igem Äthanol mit carbonatfreier Lauge und Thymolphthalein als Indicator titriert[3]. — *Ausführung.* a) Eine etwa 0,1 g Pyramidon entsprechende Menge Veramon (genau gewogen) wird in 10 ml Chloroform gelöst und mit etwa 0,05 n p-Toluolsulfosäurelösung in Chloroform titriert. Als Indicator werden 5 Tr. einer 0,05%igen Lösung von Dimethylaminoazobenzol in Chloroform verwandt. 1 ml p-Toluolsulfosäurelösung entspricht 11,56 mg Pyramidon. — Bereitung des Reagenses: Etwa 8,6 g wasserfreie p-Toluolsulfosäure werden in Chloroform zu 1 l gelöst. Zur Einstellung werden 0,05 g Hexamethylentetramin ($= a$) wie vorstehend angegeben titriert (Verbrauch $= b$ ml). $F = \frac{a}{b} \cdot 142{,}7$. — b) Zur Bestimmung des Veronals wird eine etwa 1 mmol des Barbitursäurederivats enthaltende Menge Veramon (genau gewogen) in 24 ml Äthanol (CO_2-frei, über Natrium destilliert) gelöst und nach Zusatz von 1 ml 0,1%iger äthanolischer Thymolphthaleinlösung und 15 ml CO_2-freiem Wasser mit carbonatfreier 0,1 n Lauge bis zum Farbton der Vergleichslösung[3] titriert. Von dem Verbrauch zieht man 0,03 ml als Korrektur ab. H. Sperlich

Die Anwendung der Craig-Verteilung[4] auf die Trennung von Isonicotinsäurehydrazid(I) und Nicotinsäurehydrazid(II) sowie von p-Aminosalicylsäure(III) und m-Aminophenol(IV) wurde von G. Zinner[5] untersucht. Die Verteilung von I und II wurde mit je 50 mg Substanz in 25 Stufen (= 24 Überführungen) mit je 25 ml Isobutanol und Wasser durchgeführt. Die Verteilungskurven zeigten einen normalen Verlauf. Das Maximum von I lag in der 10., das Maximum von II in der 9. Stufe. Die Verteilungskoeffizienten für I und II betrugen 0,61 bzw. 0,52. Da der Trennfaktor für ein Gemisch beider Isomeren zwischen 1,1 und 1,2 liegen würde, ist der analytische Nachweis selbst einer größeren Menge von II in I mit einer niedrigstufigen Verteilung im System Isobutanol—Wasser nicht möglich. — Für die Trennung von III und IV ist die Craig-Verteilung den bekannten Ausschüttel-Verfahren in bezug auf Schnelligkeit und Genauigkeit unterlegen. H. Sperlich

---

[1] Pharmaz. Zentralhalle Deutschland **94**, 41—45 (1955). Univ. Jena.

[2] Dietzel, R., und W. Paul: Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **273**, 507 (1935); **278**, 408 (1938).

[3] Poethke, W., und D. Horn: Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **287**, 487 (1954); vgl. diese Z. **150**. 67 (1956).

[4] Craig, L. C.: J. biol. Chemistry **150**, 33 (1943); **155**, 519 (1944); vgl. auch diese Z. **136**, 443 (1952).

[5] Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **288**, 129—133 (1955). Univ. Marburg/Lahn.

Zur Bestimmung des Chlor- und Jodgehalts von Vioform (5-Chlor-8-oxy-7-jodchinolin) haben J. A. C. van Pinxteren und M. E. Verloop[1] folgendes *Verfahren* ausgearbeitet. Etwa 100 mg genau gewogene Probe werden mit einigen Siedesteinchen in den 250 ml-Rundkolben der Apparatur (Abb. im Orig.) gebracht. Man gibt durch den Trichter erst 20 ml Schwefelsäure (1:1) hinzu, löst das Vioform durch vorsichtiges Umschwenken darin auf und läßt dann eine Mischung von 40 ml n Kaliumpermanganatlösung und 10 ml Wasser vorsichtig in den Kolben einfließen. Man hält 30 min in leichtem Sieden, bis alles Chlor in der mit einer Mischung von 16 ml n Natronlauge und 4 ml gesättigter Schwefeldioxydlösung beschickten Vorlage absorbiert ist. Dann spült man den Inhalt der Vorlage in einen 250 ml Erlenmeyer-Kolben, zerstört den Überschuß an Sulfit durch Zugabe von 10 ml 3%igem Wasserstoffsuperoxyd in verdünnter Salpetersäure und titriert das Chlorid nach Zusatz von 10 Tr. 1%iger alkoholischer Diphenylcarbazonlösung und 15 ml Äther mit 0,1 n Quecksilber(II)-nitratlösung. — Der Destillationsrückstand enthält das Jod in Form von Jodat, sowie einen Überschuß von Kaliumpermanganat. Man gibt 10%ige Natriumnitritlösung bis zur Entfärbung und zur Auflösung des Braunsteins hinzu, nimmt den Überschuß an Nitrit mit Harnstoff weg und zerstört etwa entstandenes Perjodat mit Weinsäure[2]. Nach 10 min versetzt man mit Kaliumjodid und titriert das freigewordene Jod mit 0,1 n Natriumthiosulfatlösung. — Das Verfahren bewährt sich besser als die Methode der USP XIV, bei der leicht Chlorverluste eintreten und bei der überdies der Chlorgehalt aus der Differenz des Gesamthalogens und des Jodgehaltes bestimmt werden muß. H. Sperlich

Zum Nachweis von Chelidonsäure in pflanzlichem Material empfiehlt V. Kwasniewski[3] folgende Reaktionen: 1. Mikroreaktion von E. Ramstad[4]. Man versetzt ein Stückchen Pflanzenmaterial auf dem Objektträger mit 20%iger Kalilauge. Allmählich eintretende Gelbfärbung, Bildung stern- oder büschelartig angeordneter Kristallnadeln (xanthochelidonsaures Kalium) und dichroitische Opalescenz (gelb-blau) zeigen Chelidonsäure an. Auf demselben Prinzip beruht die Opalescenzreaktion von H. Schindler[5], über die bereits berichtet wurde. 2. Die sog. „Flagellocystenreaktion", d. h. die Entstehung mikroskopischer, geißelartiger Emergenzen beim Einlegen der Droge in 5%ige Gerbsäurelösung. 3. Papierchromatographischer Nachweis. Lösungsmittel: a) Äthanol–konz. Ammoniaklösung–Wasser (80:4:16); R_f 0,33. b) Pyridin–konz. Ammoniaklösung–Wasser (80:5:15); R_f 0,47. Als Sprühreagens dient 0,04%ige Bromthymolblaulösung, mit Natronlauge auf p_H 10 eingestellt (gelbe Flecken auf blauem Grund). H. Sperlich

Zur titrimetrischen Bestimmung von Coffein in wasserfreiem Medium verwenden A. Anastasi, U. Gallo und L. Novacic[6] eine 0,1 n Perchlorsäurelösung in wasserfreier Essigsäure und als Lösungsmittel für die Probe eine Mischung von 50 ml Essigsäure und 4 ml Essigsäureanhydrid. Der Endpunkt wird potentiometrisch ermittelt. 1 ml 0,1 n Perchlorsäure ≙ 0,01942 g Coffein. — Die Anwesenheit von Essigsäureanhydrid bewirkt eine wesentliche Verschärfung des Potentialsprungs gegenüber den bisher üblichen Verfahren[7]. Da diese Erscheinung

[1] Pharmac. Weekbl. **90**, 145—149 (1955) [Holländisch]. Univ. Utrecht (Holland).

[2] de, Jong, J. C., und J. B. Lenstra: Pharmac. Weekbl. **83**, 161 (1948).

[3] Arzneimittel-Forsch. **5**, 90—92 (1955). Königslutter/Elm.

[4] Pharmac. Acta Helvetiae. **16**, 15 (1941); **28**, 45 (1953).

[5] Süddtsch. Apotheker-Ztg. **89**, 131 (1949); Arzneimittel-Forsch. **2**, 442 (1953); vgl. diese Z. **140**, 231 (1953).

[6] J. Pharmacy Pharmacol. **7**, 263—267 (1955). Farmitalia, Mailand (Italien).

[7] Ganz Ähnliches stellten bereits J. S. Fritz und M. O. Fulda, [Analyt. Chemistry **25**, 1837 (1953); vgl. diese Z. **147**, 36 (1955)] fest. (D. Ref.).

nicht auf einer Wasserbindung durch das Essigsäureanhydrid beruht (die verwendete Essigsäure enthielt höchstens 0,25% Wasser und durch das reine Coffein wurde kein Wasser in die Reaktion eingeführt; außerdem verläuft die Reaktion zwischen Essigsäureanhydrid und Wasser bei normaler Temperatur sehr langsam), muß sie zunächst unerklärt bleiben. H. Sperlich

Vorschläge für die Prüfung von Salbengrundlagen, die für das DAB VII in Frage kommen, machen W. Kern und O. Salzmann[1]. Im vorliegenden 1. Teil werden *Glycerinmonostearat* und *Polyäthylenglykol-Sorbitan-Monooleat* behandelt.
A. Kurtenacker

Über die Prüfung der homöopathischen Tinkturen von Iris versicolor und Kalmia latifolia berichtet H. Schindler[2] in Fortsetzung früherer Arbeiten, die als Unterlagen für das Ergänzungsbuch zum Homöopathischen Arzneibuch dienen sollen. H. Sperlich

4. Auf Physiologie und Pathologie bezügliche Methoden

Zur Bestimmung des Natriums in Urin durch Ionenaustausch ändern J. C. Vanatta und C. C. Cox[3] ihr früher[4] beschriebenes Verfahren ab. Der Urin wird mit einer dünnen Schicht Toluol, das mit wenig Thymol versetzt ist, überschichtet. 1—2 ml Urin (je nach dem Na-Gehalt) werden auf die mit Amberlite IR-112 in der Ba-Form gefüllte Säule gebracht, die 55 cm lang (statt wie früher[4] 50 cm) ist. Die Elution wird mit 0,05 M Bariumchloridlösung mit einer Geschwindigkeit von nicht mehr als 2 ml/min ausgeführt. Man sammelt den Durchlauf von 50—132,5 ml. In dem Durchlauf wird Bariumsulfat genau wie früher[4]) beschrieben ausgefällt. Dann werden auf die Säule mit Amberlite IRA-400 50 ml der überstehenden Lösung und danach zweimal je 10 ml entsalztes Wasser gebracht. Der Durchlauf wird in einem 250 ml-Erlenmeyer-Kolben mit Siedeaufsatz 10 min lang kräftig gekocht. Dann wird der Kolben mit einem Stopfen mit Natronkalkrohr verschlossen und in Wasser auf Raumtemperatur abgekühlt. Während der nun folgenden Titration läßt man einen Stickstoffstrom durch die Lösung streichen. Es werden die gleichen Korrekturen für die Titration und die entsprechenden Berechnungsformeln wie früher[4]) angeführt, verwendet. Die Übereinstimmung mit anderen Verfahren beträgt etwa 1—2%. R. Klement

Zur Bestimmung des Natriums in Knochen verwenden G. B. Forbes und M. D'Ambruso[5] die Ionenaustausch-Chromatographie. — *Vorschrift.* In eine Säule (60 × 1,2 cm) füllt man 21 g Dowex 50-XI 2 (50—100 mesh) ein (etwa 45 cm hoch). Der Austauscher wird durch Salzsäure in die H-Form gebracht. Von Muskeln und Mark befreite Knochen (z. B. von Ratten) werden über Nacht bei 65° C in einem Vakuumofen getrocknet und dann bei 525° C in einem Muffelofen verascht. Die Lösung der Asche in 3 n Salzsäure wird 10 min lang gekocht und filtriert. Für eine

[1] Dtsch. Apotheker-Ztg. **1955**, 536—537. Priv. Lab. Kern, Bochum, u. Fa. Beiersdorf, Hamburg.

[2] Arzneimittel-Forsch. **4**, 633—635 (1954). Fa. Dr. Willmar Schwabe, Karlsruhe.

[3] J. biol. Chemistry **212**, 599—605 (1955). Univ. Dallas, Texas (USA).

[4] J. biol. Chemistry **210**, 719 (1954); vgl. diese Z. **148**, 461 (1956).

[5] J. biol. Chemistry **212**, 655—661 (1955). Univ. Rochester, NY. (USA); siehe auch J. Beukenkamp und W. Rieman III, Anal. Chemistry **22**, 582 (1950); vgl. diese Z. **133**, 211 (1951).

Bestimmung sind etwa 0,3—2,0 g Frischgewicht an Knochen erforderlich. Die Untersuchungslösung wird auf die Säule gebracht. Zuerst wird das Natrium durch 0,7 n Salzsäure mit einer Geschwindigkeit von etwa 2,0 ± 0,5 ml/min bei etwa 21° C Raumtemperatur eluiert und in der Fraktion von 100—300 ml quantitativ erfaßt. Dann wird 5 n Salzsäure angewendet, die das Kalium, Magnesium und Calcium in den folgenden 200 ml eluiert. Dauer etwa 7 Std. Das Natrium wird flammenspektrometrisch bestimmt, die anderen Kationen können nach bekannten Verfahren ebenfalls ermittelt werden. In den ersten 100 ml Durchlauf befindet sich übrigens das Phosphat, das auch quantitativ erfaßt werden kann. Die Genauigkeit der Natriumbestimmung ist gut. R. Klement

Eine Mikromethode zur Bestimmung von Magnesium in biologischem Material, insbesondere Blutserum, wird von K. J. Karrman und S. Borgström[1] angegeben. Sie beruht ebenso wie das kürzlich von A. Holasek und H. Flaschka[2] veröffentlichte Verfahren auf der Titration des Magnesiums mit Äthylendiamintetraessigsäure (Komplexon III), unterscheidet sich von diesem jedoch dadurch, daß das Serum nicht mit Trichloressigsäure enteiweißt, sondern im Platintiegel verascht wird. Außerdem wird eine 2½fach stärkere Komplexonlösung verwendet, so daß weniger davon zur Titration benötigt wird. Das abgeänderte Verfahren gibt genauere Werte als die ursprüngliche Arbeitsweise von Holasek und Flaschka. Die Fehlerbreite beträgt nämlich nur etwa ± 1,2%. — *Arbeitsweise.* Ein Platintiegel (8 ml Inhalt, 5 g Gewicht) wird mit 1 ml Serum beschickt und 4—5 Std auf 95° C erwärmt. Dann erhitzt man zunächst vorsichtig, bis die organische Substanz zu brennen beginnt, wonach man 10 min auf Rotglut (700—800° C) hält. Nach dem Abkühlen setzt man 0,5 ml 1n Salzsäure zu, läßt sie einige Minuten einwirken und gießt dann die Lösung in ein kleines Reagensglas, wobei man den Platintiegel mit insgesamt etwa 4 ml Wasser nachspült. Dann versetzt man mit 0,5 ml konz. Ammoniaklösung und 1 ml 1%iger Natriumoxalatlösung (zur Ausfällung des Calciums), ergänzt mit Wasser auf 8 ml und erhitzt das Gemisch 2 Std auf dem Wasserbad. Man kühlt ab, saugt die Lösung vom Niederschlag mit Hilfe eines Filterstäbchens mit Wattefilter nach Pregl ab, wobei man den Niederschlag mit 3 × 0,5 ml Wasser wäscht. Nach Zugabe von 4—5 Tr. 0,5%iger äthanolischer Lösung von Eriochromschwarz T titriert man mit 0,00252 m Komplexon III-lösung mittels einer genauen Mikrobürette, deren capillares Ende in die Lösung taucht. Für jede Titration werden 0,3—0,4 ml Maßlösung benötigt. Die Ablesegenauigkeit beträgt ± 0,00005 ml. Auch bei Anwendung von nur 0,15 ml Serum wurden noch reproduzierbare Werte erhalten. Orientierende Versuche zeigten, daß sich die Methode auch für die Magnesiumbestimmung in pflanzlichem Material eignet. H. Sperlich

Calciumbestimmung in biologischem Material. *Die colorimetrische Bestimmung von Ultramikromengen Calcium in menschlichem Serum als Alizarinkomplex* beschreiben S. Natelson und R. Penniall[3]. Der Calciumalizarinkomplex wird aus alkalischer Lösung mit aliphatischen Alkoholen (mit 4—10 C-Atomen) quantitativ ausgeschüttelt. Als Base zum Alkalisieren dient das 95%ige Triäthanolamin des Handels, das Monoäthanolamin enthält. Reines Triäthanolamin eignet sich nicht. Ein hoher Alkali- und Salzgehalt soll vermieden werden, weil sonst das Alizarin in die organische Phase übergeht. Wenn der Phosphat-, Fluorid- und Oxalatgehalt 0,1 n nicht übersteigt, ist kein störender Einfluß festzustellen. — *Ausführung.* In

[1] Svensk kem. Tidskr. **67**. 18—23 (1955). Univ. Lund (Schweden).
[2] Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chemie **290**, 57 (1952); vgl. diese Z. **143**, 208 (1954).
[3] Analyt. Chemistry **27**, 434—437 (1955). Memorial Hosp., Rockford, Ill. (USA).

mit einer Kunststoffkappe verschließbare Reagensgläser (16 × 125 mm) wird 1,0 ml Wasser gegeben und 0,02 ml frisches Serum hineingespült. Dann versetzt man aus Büretten mit 2,0 ml 1,0 n wäßriger Triäthanolaminlösung und 3,0 ml Alizarinreagens (40 mg reinstes Alizarin in 1 l n-Octylalkohol). Ein Blindversuch wird daneben angesetzt. Die verschlossenen Gläser werden 20 min auf einer Schüttelmaschine geschüttelt und danach 5 min bei 2000 U/min zentrifugiert. Etwa 2 ml der überstehenden Flüssigkeit werden in ein anderes Glas übergeführt und nochmals zentrifugiert. Anschließend wird die Färbung gegen den Blindansatz bei 560 mμ gemessen. Da Magnesium unter diesen Bedingungen ebenfalls reagiert, muß neben dem Calciumstandard ein Korrekturfaktor für Mg ermittelt werden oder durch einen zugesetzten großen Überschuß von Mg (2 mg/100 ml) dieser Einfluß ausgeschaltet werden. — Eine weitere Möglichkeit besteht in der Abtrennung des Calciums als Oxalat nach folgender Vorschrift: 0,2 ml Serum oder Urin werden in einem Zentrifugenglas (mit einer Marke bei 2 ml) mit 0,2 ml gesättigter Ammoniumoxalatlösung vermischt und 2 Std bei 37° C stehengelassen. Anschließend wird 5 min bei 2000 U/min zentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit abgehebert. Dann gibt man zum Niederschlag 0,3 ml 1,2%iges Ammoniak zu, mischt gut durch, zentrifugiert wieder und hebert ab. Anschließend wird der Niederschlag mit 0,2 ml 0,1 n Salzsäure bei 100° C gelöst, abgekühlt und bis zur 2 ml-Marke verdünnt. 0,2 ml Abnahme wird dann wie oben beschrieben weiter verarbeitet. Vergleichsanalysen mit der Methode nach E. P. Clark und J. B. Collip[1] zeigten gute Übereinstimmung. Der Durchschnitts-Korrekturfaktor für Mg wird mit 0,7 mg/100 ml für menschliches Serum angegeben. H. Pohl

L. Eldjarn, O. Nygaard und S. L. Sveinsson[2] vergleichen zur *Calciumbestimmung im Serum* die *komplexometrische Titrationsmethode* mit dem *Verfahren von* B. Kramer und F. F. Tisdall[3] *in der Modifikation von* E. P. Clark und J. B. Collip[4]. *Für die komplexometrische Titration* verwenden die Verff. folgende *Arbeitsweise*, die sich an die Vorschriften von F. W. Fales[5] und J. Lehmann[6] anlehnt. Man gibt in eine große Küvette des auf 600 mμ eingestellten Coleman-Spektrophotometers 1 ml Serum (oder 1 ml Ca^{++}-Standard), mischt mit 9 ml 0,2 n NaOH-Lösung und 1 ml Murexidlösung (1 mg/ml) und stellt die Extinktion auf Null ein. Nun fügt man 0,5 ml- oder 1,0 ml-Portionen der Komplexon III-lösung (0,18 g/l) zu und mißt jedesmal die Extinktion. Der Zufluß aus der Bürette geschieht durch eine unter die Flüssigkeit tauchende Capillare; durch eine zweite Capillare wird Stickstoff eingeleitet, der zum Mischen der Flüssigkeit dient. Um Schäumen zu verhindern, gibt man einige Tropfen Amylalkohol zu. Der Zusatz der Maßflüssigkeit wird etwa 2 ml über den Punkt hinaus fortgesetzt, bei dem die Extinktion abzunehmen beginnt. Durch Auftragen der Extinktion gegen die Milliliter verbrauchter Maßlösung erhält man zwei Kurven. Zieht man Gerade durch die drei letzten Punkte des aufsteigenden Kurvenastes und die 2 oder 3 ersten Punkte des absteigenden Astes, so ergibt deren Schnittpunkt den Endpunkt der Titration. Der Titer der Komplexonlösung wird gegen eine Calcium-Standardlösung unter den gleichen Bedingungen eingestellt. — Die alkalische Lösung darf in der Küvette nicht längere Zeit stehen, da dies Fehler verursacht. Magnesium im Konzentrationsbereich von

[1] J. biol. Chemistry **63**, 461 (1925).

[2] Scand. J. clin. Lab. Invest. **7**, 92—94 (1955). Inst. f. Krebsforsch., Radium Hosp. u. Ullevål Hosp., Oslo (Norwegen).

[3] J. biol. Chemistry **47**, 475 (1921); vgl. auch diese Z. **74**, 151 (1928).

[4] J. biol. Chemistry **63**, 461 (1925).

[5] J. biol. Chemistry **204**, 577 (1953); vgl. diese Z. **148**, 50 (1955).

[6] Scand. J. clin. Lab. Invest. **5**, 203 (1953).

1—10 mg-% sowie Natriumsilicat stören nicht. Ebenso ist eine Temperaturänderung zwischen 10° und 30° C ohne Einfluß auf die Titration. — Die Ergebnisse der komplexometrischen Titration sind um etwa 0,46 mg-% niedriger als die nach CLARK und COLLIP erhaltenen Werte. Man multipliziert also die Titrationsergebnisse mit dem Faktor 1,046. Die Streuung ist bei beiden Methoden ungefähr gleich groß (± 0,1 mg-%). Die komplexometrische Titration kann doppelt so rasch durchgeführt werden wie die Bestimmung nach CLARK und COLLIP. A. KURTENACKER

Bei der direkten flammenphotometrischen Calciumbestimmung in Serum und Urin sind die meist verwendeten Calciumoxydbanden 554 und 620 mμ durch Na beträchtlich gestört. In einem von I. MACINTYRE[1] angegebenen Flammenphotometer (Skizze im Original; Acetylen-Preßluft) mit einem RCA 931-A Photomultiplier, der größte Empfindlichkeit im Blau hat, kann die durch Na ungestörte schwache Ca-Linie bei 423 mμ gemessen werden. — Die Verminderung der Ca-Emission durch Phosphat ist nur dann konstant, wenn das Atomverhältnis P : Ca > 0,8 ist. Deshalb enthält das verwendete Verdünnungsmittel ausreichend Phosphat, obendrein etwas Perchlorsäure als Proteinfällungsmittel. Plasma wird 10fach, Urin 20fach verdünnt. Die gefundenen Ca-Werte sind recht befriedigend. Die flammenphotometrischen Werte sind im Vergleich zur Oxalatfällung nach KRAMER und TISDALL um 0,28 mVal/l höher. Auf Grund einer Überprüfung mit zugesetztem ^{45}Ca wird die Diskrepanz hauptsächlich der Oxalatmethode zugeordnet (Verlust beim Auswaschen des Oxalatniederschlages). H. SPECKER

P. S. CHEN jr. und T. Y. TORIBARA[2] weisen auf einige Fehler hin, die bei der *Bestimmung des Calciums in gealtertem Blutserum* auftreten können. — Während die Fällung des Calciums als Oxalat in frischem Serum vollständig ist, bleibt in gealterten Seren ein Teil des Calciums in Lösung. Fällt man dagegen das Eiweiß mit Trichloressigsäure, so enthält das Filtrat das gesamte Serumcalcium, das dann bei p_H 5 als Oxalat vollständig gefällt werden kann. Führt man die Bestimmung flammenphotometrisch aus, so ist ein sorgfältiges Auswaschen der Calciumfällung nicht notwendig, da weder Ammoniumoxalat noch Magnesium die flammenphotometrische Calciumbestimmung stören. Die Eichkurve kann mit $CaCl_2$-Lösung ohne die sonst erforderlichen Zusätze von Na, K und Phosphat aufgestellt werden, da diese störenden Stoffe bereits bei der Oxalatfällung entfernt werden.

TH. BREYHAN

Zur Bestimmung des endogen in die Faeces ausgeschiedenen Calciums wird von C. L. COMAR, R. A. MONROE, W. J. VISEK und S. L. HANSARD[3] die Verwendung von ^{45}Ca vorgeschlagen. Man kann 2 verschiedene Methoden anwenden. 1. Die *Isotopenverdünnungsmethode*, bei welcher das Faecalcalcium bei Verfütterung von 100 Einheiten Isotopen-Ca = 100 — A + E ist. A entspricht der resorbierten Menge, E der in den Darm ausgeschiedenen Menge. Bestimmt man gleichzeitig die spezifische Aktivität im Serum (S_p) und in den Faeces (S_F), so ergibt sich die Gleichung: $S_F/S_p = E/(100 - A + E)$. Aus diesen Gleichungen lassen sich die beiden Unbekannten A und E berechnen. In der Praxis wird den Tieren 10—15 Tage lang täglich ^{45}Ca injiziert und die Aktivität im Plasma und in Faeces bestimmt. — 2. Die *vergleichende Methode* beruht darauf, daß Serumcalcium in jeder Minute zu 70% mit dem Gewebe umgesetzt wird. 85% davon sind bereits nach kurzer Zeit in den Knochen nachweisbar. Wenn man also einem Tier ^{45}Ca füttert, so wird es resorbiert,

[1] Recueil Trav. chim. Pays-Bas (Amsterdam) **74**, 498—501 (1955). Postgrad. Med. School, London, W. 12.

[2] Analyt. Chemistry **26**, 1967—1968 (1954). Univ. Rochester, N. Y. (USA).

[3] J. Nutrit. **50**, 459—467 (1953). Univ. Oak Ridge, Tenn. (USA).

wahrscheinlich in demselben Maße wie normales Calcium; in die Faeces wird nun kein isotopes Calcium, sondern normales Calcium ausgeschieden, welches aus den Knochen stammen kann. Unter Berücksichtigung dieser Verhältnisse kann die Gleichung aufgestellt werden: $E = (100 - \text{Faeces} - {}^{45}\text{Ca})/(1 - B) - (100 - \text{Faeces} - \text{Ca})$, in welcher B die aus dem Serum in den Darm ausgeschiedene Calciummenge darstellt. Es läßt sich also die endogene Menge ebenfalls mit Hilfe entsprechender Analysen berechnen. Es ergab sich dabei, daß bei Rindern die spezifische Aktivität der Faeces mit der spezifischen Aktivität des Calciumserums vom Vortage verglichen werden muß. Zwischen der Resorption von ${}^{45}CaCl_2$ und Milchcalcium konnte kein Unterschied gefunden werden. Die größte Unsicherheit bei diesen Versuchen liegt wahrscheinlich bei der Feststellung der Bilanz. Die mit beiden Methoden bei denselben Tieren bestimmte endogene Quote differierte nur wenig und beträgt bei Kühen, Stieren und Kälbern 5,2—5,7 g je Tag.

K. Hinsberg

Bestimmung von Zink. *Zur spektrochemischen Bestimmung von Zink in Blut* hat N. W. H. Addink[1] sein früher beschriebenes Verfahren[2] verbessert. Das trocken bei 490° C veraschte Blut wird auf Graphitelektroden im Lichtbogen verdampft. Und zwar werden 10 mg Blutasche auf die untere leicht konkav ausgedrehte, als Anode geschaltete Elektrode gebracht. Dann werden noch 1 mg Natriumchlorid zur Festlegung der Temperatur zugesetzt, und nun die untere Elektrode über eine biegsame Welle durch einen Elektromotor mit 45 U/min in Rotation versetzt. Der Lichtbogenstrom wird auf 10 A einreguliert. Die quantitative Bestimmung des Zinks erfolgt nach dem Verfahren der abgestuften Zusätze des zu bestimmenden Elements, bei dem aus den Linienintensitäten, die bis auf einen konstanten Faktor bekannten Konzentrationen entsprechen, auf die unbekannte Konzentration extrapoliert wird.

J. van Calker

T. E. Banks, R. Tupper, R. W. E. Watts und A. Wormall[3] beschreiben die *Bestimmung von ${}^{65}Zn$ in Geweben mit Geiger- und Scintillationszählern. — Arbeitsvorschrift.* Eine gewogene Portion des biologischen Materials (0,1—5 g) wird mit konz. Schwefel- oder Salpetersäure (2 ml/g Gewebe) erhitzt, bis eine klare Lösung entstanden ist. Wenn es erforderlich ist, gibt man noch mehr Säure zu. Ist H_2SO_4 verwendet worden, so sollten etwa 5 mg/ml SeO_2 zugefügt werden und nach dem Klarwerden der Lösung sollte noch $\frac{1}{2}$ Std erhitzt werden. Man verdünnt auf 15—20 ml mit Wasser und entnimmt einen aliquoten Teil der direkt im Flüssigkeits- oder Scintillationszähler gemessen werden kann. Soll das Zn chemisch abgetrennt werden, so kann etwa die Methode von T. E. Banks, R. Tupper und A. Wormall[4] benutzt werden. Ein für die Messung der Flüssigkeitsproben besonders geeigneter Scintillationszähler wird beschrieben.

F. Weigel

Eine Schnellmethode zur Mikrobestimmung von Quecksilber in organischen Substanzen auch in Gegenwart von Halogenen beschreiben T. Sudo, D. Shimoe und H. Miyahara[5]. Die zu untersuchende Verbindung wird in einem gewöhnlichen Verbrennungsrohr verbrannt und das entweichende Quecksilber nach Passieren

[1] Recueil Trav. chim. Pays-Bas (Amsterdam) **74**, 197—205 (1955). Philips Res. Labs., Eindhoven (Holland).

[2] Addink, N. W. H.: Recueil Trav. chim. Pays-Bas (Amsterdam) **70**, 168 (1951); vgl. diese Z. **137**, 358 (1952/53).

[3] Biochemic. J. **59**, 149—152 (1955). St. Bartholomeus Hosp., London, E. C. 1.

[4] Biochemic. J. **47**, 466 (1950).

[5] Jap. Analyst **4**, 88—91 (1955) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. ref.). Mitsubishi Chem. Ind., Ltd., Kurosaki (Japan).

einer Calciumoxydschicht in Salpetersäure aufgefangen. Die entstehende Lösung wird mit Ammoniumthiocyanatlösung titriert. Die Dauer der Bestimmung beläuft sich auf 35 min. H.-F. KURANDT

Zur Schnellbestimmung von Blei in Blut oder Urin in Anwesenheit chelatbildender organischer Stoffe entwickelten S. P. BESSMAN und E. C. LAYNE jr.[1] ein Verfahren unter Verwendung von Dithizon. — *Reagentien.* I. Digestionsreagens: 5 Vol Salpetersäure — 2 Vol Schwefelsäure. II. Pufferlösung: 118 g Diammoniumcitrat — 75 ml konz. Ammoniak werden mit Wasser auf 250 ml verdünnt, nach Abkühlung löst man hierin 5 g Kaliumcyanid und 2.5 g Natriumsulfit und schüttelt mit Dithizon-Chloroformlösung (30 mg l) (DTCF) aus, bis diese grün gefärbt bleibt; nach Zusatz von 500 ml Ammoniak wird nochmals ausgeschüttelt. III. Waschlösung: 5 g KCN — 250 ml NH_4OH, mit H_2O auf 500 ml verdünnt. — *Verfahren:* 2 ml Blut oder 10 ml Urin werden in einem Reagensrohr (25 × 260 mm) mit Glasstopfen mit 5 ml I nach Einbringen einiger Glasperlen über dem Mikrobrenner bis zum Auftreten weißer Dämpfe erhitzt. Nach Zusatz von 20 Tr. 70%iger Perchlorsäure wird weiter erhitzt, bis der Ansatz über Gelb in Farblos übergeht. Nun fügt man 5 ml Wasser, 4 ml Ammoniak und 1 Tr. Phenolrot (0.1%ige Lösung) zu. Nach Mischen und Kühlen muß die Lösung rot gefärbt bleiben, andernfalls wird weiterhin tropfenweise Ammoniak zugegeben. Nun setzt man 10 ml II und 3 ml DTCF zu und schüttelt nach Verschließen des Rohres 20 min kräftig in Längsrichtung. Nach der Trennung zieht man die wäßrige Phase möglichst vollständig ab, gibt 10 ml III zu, schüttelt wieder und trennt auch diese ab. Die DTCF-Lösung bringt man in ein 1 cm-Colorimetrierrohr und bestimmt nach 10 min langem Stehen die Extinktion bei 510 mμ gegen eine Blindprobe von reinem Chloroform. Aus einer Bleistandardlösung von 36.6 mg Bleiacetat · 3 H_2O/l, die man im Verhältnis 1:10 verdünnt, wird die Eichkurve ermittelt, die bei einem Gehalt von 1—10 μg Blei in der Probelösung linear verläuft. K. SÖLLNER

Eine einfache Methode zur halbquantitativen Bestimmung von Koproporphyrin III im Harn wird von W. F. DONATH[2] beschrieben. Die Methode kann zur Ermittlung von Fällen von *Bleivergiftung* angewendet werden, da bei der erhöhten Aufnahme von Blei in den Organismus meistens eine erhöhte Abscheidung von Koproporphyrin III auftritt, bevor klinisch nachweisbare Zeichen von Bleiintoxikation vorhanden sind. Koproporphyrin, in Äther leicht löslich, kann durch seine Fluorescenz im UV-Licht erkannt werden. Durch Vergleich mit fluorescierenden Papierstreifen wird der Gehalt an Koproporphyrin abgeschätzt. — *Arbeitsweise.* 10 ml frischer Harn wird mit 2 ml einer Mischung aus 9 Tl. Äther und 1 Tl. Eisessig in einem nicht fluorescierendem Reagensglas kräftig durchgeschüttelt und die Ätherschicht mindestens 10 min mit UV-Licht bestrahlt. Da der Harn auch meistens fluoresciert, wird das Reagensglas soweit in den Apparat gesteckt, daß nur die Ätherschicht sichtbar ist. Neben der Öffnung für das Reagensglas etwa 25 cm unter der UV-Lampe (Philips HPM, 125 Watt) befindet sich eine zweite Öffnung. Darunter dreht sich eine Scheibe mit 8 Papierstreifen, die im UV-Licht in Farben von Blau bis Orangerot aufleuchten. Die Papierscheiben bestehen aus Schreibmaschinendurchschlagspapier, das zunächst mit dem Aufhellmittel Uvitex RT (Ciba A.G.) in einem Bad getränkt und dann kürzere oder längere Zeit mit einer wäßrigen Lösung von Rhodamin B behandelt wird. Nach dem Trocknen zeigen die Papier-

[1] J. Lab. clin. Med. **45**, 159—166 (1955). Children's Hosp. Washington D.C.

[2] Recueil Trav. chim. Pays-Bas (Amsterdam) **74**, 551—555 (1955). Den Dolder (Holland).

streifen eine Fluorescenz von Blau bis Rotorange, je nach Konzentration und Dauer der Bäder. Auf diese Weise werden 8 verschiedene Fluorescenzgrade angefertigt. Die Fluorescenz der Mengen Koproporphyrin im Harn, die mit der Fluorescenz der Papierstreifen übereinstimmt, wird durch Zusatz einer bekannten Menge Koproporphyrin zu porphyrinfreiem Harn bestimmt. Es können mit der Apparatur Koproporphyrinmengen von 0—5000 μg/l in 8 verschiedenen Stufen abgeschätzt werden.

H.-F. KURANDT

Bei der schnellen Stickstoffbestimmung in Stoffwechselprodukten benutzen S. W. MAYER, F. H. KELLY und M. E. MORTON[1] eine Schnelldiffusionsmethode zur Bestimmung des Ammoniumgehaltes. Das Verfahren ist anstelle der KJELDAHL-Destillation brauchbar bei Mengen von 5 μg –10 ng Stickstoff und kann zur Vorbereitung von Proben zur massenspektrometrischen ^{15}N-Bestimmung dienen. — Die Substanz wird in ein 30 ml-Fläschchen (30 mm ⌀, 70 mm hoch) zusammen mit acht Glasperlen eingefüllt, die die Durchmischung fördern sollen. Die Flüssigkeit in der Flasche wird mit destilliertem Wasser auf 3 ml aufgefüllt. Man fügt dann noch 1,5 ml gesättigte Kaliumcarbonatlösung hinzu und verschließt die Flasche mit einem besonders hergerichteten Gummistopfen. Der Gummistopfen hat eine Bohrung, in die ein Glasstab eingeschoben wird, so daß er 20 mm oberhalb des Flaschenbodens endet. Auf den Stab sind zehn Glasspiralen aufgeschoben. Das Ende des Stabes ist verdickt, so daß die Spiralen nicht herunterfallen können. Diese Spiralen aus Borosilicatglas sind in der Lage, eine gewisse Menge Schwefelsäure festzuhalten, die das in dem Fläschchen freigemachte Ammoniak aufnimmt. Für Milligrammengen muß 50%ige, für Mikrogrammengen 5%ige Schwefelsäure zum Befeuchten benutzt werden. Die so vorbereiteten Fläschchen (bis zu 12 Stück) werden auf einen Drehteller gelegt, der mit 45 U/min umläuft. Sie werden durch Klammern so gehalten, daß sie in einem Abstand von 13 cm von der Drehtellerachse um ihre eigene Längsachse liegend rotieren. Man läßt 30 min lang rotieren und heizt währenddessen den Inhalt der Fläschchen durch zwei Infrarotstrahler auf 65 $\pm$ 2° C auf. Zur Bestimmung von Mikrogrammengen werden 3 ml eines auf 1:10 verdünnten, von BOCK-BENEDICT[2] verbesserten NESSLER-Reagenses in eine 1 cm-Absorptionsküvette eingefüllt. Dann wird der Stopfen von dem Diffusionsfläschchen entfernt und der Glasstab mit den Spiralen mehrmals in die Küvette eingetaucht, so daß alle darauf haftende Flüssigkeit mit der Küvettenfüllung gut vermischt wird. Der Stab wird dann herausgenommen. Nach 5 min wird die Lösung in einem Beckman DU-Spektrophotometer mit Licht von 418 mμ gemessen. — Bei Milligrammengen von Stickstoff wird der Glasstab in ein Meßkölbchen abgespült. Aliquote Teile daraus werden mit NESSLERS Reagens so vermischt, daß die Verdünnung des Reagenses nachher 1:10 betragt. Die Messung kann dann wie vorher beschrieben erfolgen. Zur massenspektrometrischen Analyse ^{15}N-haltiger Proben wird die an den Glasspiralen haftende Schwefelsäure, die das diffundierte Ammoniak enthält, in ein zweischenkliges Gefäß[3] gebracht und dort mit Hypobromit zu Stickstoff umgesetzt. Die so gewonnene Stickstoffprobe kann dann dem Gaseinlaßsystem eines Massenspektrometers zugeführt werden. Die Genauigkeit dieser Verfahren beträgt bei Substanzmengen unter 10 μg 0,2 μg, bei Mengen darüber 2%.

J. RASCH

[1] Analyt. Chemistry **27**, 837—838 (1955). Vet. Admin. Hosp., Long Beach, und Univ. Los Angeles, Calif. (USA).

[2] HAWK, P. B., B. L. OSER und W. H. SUMMERSON: Practical Physiological Chemistry, 12. Aufl. S. 1230, Blakiston, Philadelphia 1947.

[3] SPRINSON, D. B., and D. RITTENBERG: Naval Medical Bull., Supplement on Preparation and Measurement of Isotopes, S. 82 (1948).

Die Bestimmung der Sauerstoffsättigung von Hämoglobin gründen L. KLUNGSÖYR und Mitarb.[1] auf die Unterschiede in der Lichtabsorption von Hämoglobin (Hb) und Oxyhämoglobin (HbO_2). Bei 558 mμ hat Hämoglobin die höhere Extinktion bei 575 mμ ist das Umgekehrte der Fall. Das Verhältnis der optischen Dichten bei diesen Wellenlängen ist konstant, unabhängig von der Schichtdicke und der Hämoglobinkonzentration. Im Mittel wurden für die Quotienten folgende Werte festgestellt: $q_1 = E^{575}_{HbO_2}/E^{558}_{HbO_2} = 1{,}854$; $q_2 = E^{575}_{Hb}/E^{558}_{Hb} = 0{,}718$; $r = E^{575}_{Hb}/E^{575}_{HbO_2} = 0{,}591$. Hat man in der zu untersuchenden Probe gemessen: $q_x = E^{575}_x/E^{575}_x$, so läßt sich die Sauerstoffsättigung x nach der folgenden Gleichung berechnen: $x = \frac{q_1 - q_x}{q_x(q_1 \cdot r/q_2 - 1) + q_1 - q_1 \cdot r}$, oder %Sättigung $= (1 - x)\,100$. Die Kurve der Sättigung ist fast eine Gerade. — *Ausführung.* Die mit 2—5 ml Blut gefüllten Spritzen werden mit Hg abgedichtet, Gummischläuche über die Kanülenansätze gezogen und mit kleinen Metallstäbchen verschlossen. Zur Hämolyse werden etwa 0,3 ml gesättigte Saponinlösung durch die Gummischläuche eingespritzt. Dann füllt man mittels einer aufgesetzten Kanüle eine Spezialküvette mit nur 0,07 mm Schichtdicke (Skizze im Original) durch einen Polyäthylenschlauch, der über die Anschlußstutzen gezogen wurde, bis etwa 20 Tropfen aus dem Austrittstutzen gelaufen sind. Die optischen Durchlässigkeiten werden bei 575 und 558 mμ ermittelt, der Quotient aus beiden Werten gebildet und mit diesem aus der Eichkurve oder durch Rechnung der Prozentgehalt der Sauerstoffsättigung entnommen. Das neue Verfahren wurde in 90 Parallelanalysen mit der manometrischen VAN SLYKE-NEILL-Methode verglichen. Die Werte liegen im Durchschnitt um 4% höher, die Streuungen bei beiden Methoden sind gleich groß. Der Zeitbedarf beträgt bei 10 Proben nach der manometrischen Methode 8—9 Std, während für die spektrophotometrische Methode $1^1/_2$ Std benötigt werden, so daß sie für Routineanalysen besonders geeignet ist. H. POHL

Eine Mikromethode zur kontinuierlichen und gleichzeitigen Bestimmung von CO_2 und O_2 in einer abgeänderten WARBURG-Apparatur wird von L. CHAPON[2] beschrieben. Das von dem biologischen Material entwickelte CO_2 wird durch Barytlauge absorbiert. Die Abnahme des Volumens entspricht dann dem Verbrauch an Sauerstoff durch das Untersuchungsgut. Die Menge des aufgenommenen Kohlendioxyds wird durch Abnahme der Leitfähigkeit einer 0,05 n Barytlauge (0,6 ml) zwischen platinierten Platinelektroden gemessen. Da zur Zerstörung der Haut von $BaCO_3$, die sich auf der Oberfläche bildet und die die weitere Absorption von CO_2 hemmt, das übliche Schütteln der Apparatur nicht genügt, wird die Elektrolysezelle auf einem Wolframdorn so gelagert, daß sie zusätzlich um etwa 60° schwingen kann (Fa. Braun, Melsungen). Druck und Temperatur müssen während der Messung konstant bleiben. — Die Einzelheiten des Untersuchungsverfahrens mögen im Original eingesehen werden. G. DENK

Verfahren zur Analyse der Atemluft durch Messung der Wärmeleitfähigkeit werden von B. F. VISSER[3] beschrieben. G. DENK

Zur Fluorbestimmung in biologischem Material empfehlen P. VENKATESWARLU und D. NARAYANA RAO[4] folgende *Arbeitsweise*, bei der das leicht zu Fluorver-

[1] KLUNGSÖYR, L., K. F. STÖA und S. SÖRENSEN: Scand. J. clin. Lab. Invest. **6**, 270—276 (1954); KLUNGSÖYR L. u. K. F. STÖA: Recueil Trav. chim. Pays-Bas (Amsterdam) **74**, 571—578 (1955). Univ. Bergen (Norwegen).

[2] Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) **37**, 171—180 (1955). École de Brasserie, Nancy.

[3] Recueil Trav. chim. Pays-Bas (Amsterdam) **74**, 507—512 (1955). Univ. Utrecht.

[4] Analyt. Chemistry **26**, 766—767 (1954). Medical College, Trivandrum (Indien).

lusten führende trockene Veraschen vermieden wird: Man unterwirft 0,5 g Probe der Destillation aus schwefelsaurer Lösung nach WILLARD und WINTER. Das Destillat, das gerade schwach alkalisch gegen Phenolphthalein sein soll, wird zum Kochen gebracht, mit 0,2 g Magnesiumoxyd versetzt und weitere 5 min im Sieden erhalten. Das MgO, das das Fluorid adsorbiert hat, wird durch Filtrieren oder Zentrifugieren abgetrennt und der WILLARD-WINTER-Destillation aus perchlorsaurer Lösung in Gegenwart von Barium- und Silberperchlorat zum Zurückhalten der störenden Sulfat- und Chlorid-Ionen unterworfen. Die Fluortitration im Destillat geschieht nach F. A. SMITH und D. E. GARDNER[1]. A. KURTENACKER

Potentiometrische Bestimmung von Chloriden in biologischen Flüssigkeiten. M. C. SANZ und T. BRECHBÜHLER[2] verwenden die Titration mit 0,01 n oder 0,002 n Silbernitratlösung in Kaliumsulfatlösung an einer Silberelektrode, die

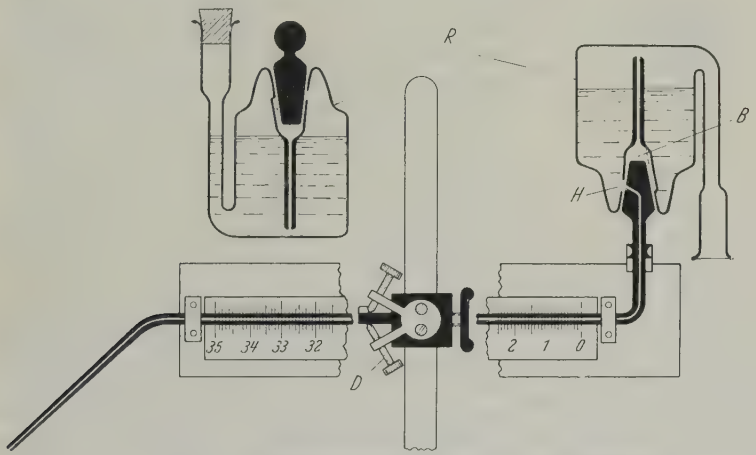

Abb. 1. Ultramikrobürette nach SANZ und BRECHBÜHLER

gegen eine Quecksilbersulfatelektrode geschaltet ist. Der Potentialsprung ist dann auch bei den hohen Verdünnungen und bei Titration von nur 1—10 μg Chlorid noch so hoch (160 mV), daß er mit einem Röhrenvoltmeter mit ausreichender Genauigkeit abgelesen werden kann. Zur Titration wird zunächst in einer Platinschale die Potentialeinstellung in reiner 0,6 n Schwefelsäure (80 μl) ermittelt, dann wird unter kräftigem Rühren (magnetischer Rührer mit 800 U/min) die Probe (10 μl) zugefügt und mit Annäherung an den Äquivalenzpunkt immer langsamer titriert. Die Silberelektrode, ein am Ende zu einer Kugel von 2 mm Durchmesser geschmolzener Draht, sorgfältig mit Salpetersäure gereinigt und anschließend gewaschen, befindet sich dabei in einem Abstand von 2 mm von der Quecksilbersulfatelektrode. — Als Mikrobürette dient die Vorrichtung nach Abb. 1. *R* ist das Vorrats- und Aufbewahrungsgefäß für die Maßlösung und ist durch Anstrich gegen Lichteinwirkung geschützt. Es kann schnell und bequem ausgewechselt werden, wenn die Bürette um die Längsachse gedreht wird. Durch *H* wird die Capillare mit Lösung versorgt, deren Durchflußmenge mit den Schrauben *D* für 200 μl (bei 350 mm Länge der

[1] U.S. Atomic Energy Commission, Unclassified Document UR 36 (1948).

[2] Recueil Trav. chim. Pays-Bas (Amsterdam) **74**, 530—536 (1955). Zentrallab. Univ. Hosp. Genf (Schweiz).

Capillare) zwischen 30 sec und 5 Std geregelt werden kann. Zur Feststellung der Fließgeschwindigkeit wird eine Luftblase aus *B* durch horizontale Kreisdrehung des Vorratsgefäßes in die Capillare eingesaugt und deren Wanderung an der Skala abgelesen. — Die Potentialsprünge sind sehr gut reproduzierbar. Die Standardabweichung der Analysen beträgt maximal $\pm$ 2,2%.

Abb. 2. Heber nach JORDAN (Zur Hälfte dargestellt)

A. JORDAN[1] hat die *potentiometrische Titration von Chloriden in biologischen Flüssigkeiten* mit 0,02 n Silbernitratlösung an der Silberelektrode gegen eine zweite Silberelektrode in austitrierter Lösung durch Anwenden einer neuen, leicht ausspülbaren Kaliumsulfat-Elektrolytbrücke (vgl. Abb. 2) und eines magnetischen Rührers verbessert und zur Anzeige der Veränderung der Potentialdifferenz während der Titration ein von A. B. KESTEVEN konstruiertes einfaches Röhrengerät verwendet, das Differenzen im Potential kontinuierlich abzulesen gestattet. Die Schaltung und Handhabung des Gerätes sind im Original beschrieben. In einem Gesamtvolumen von stets 14 ml, das bis zu 1 ml Serum, 3 ml 1 n Salpetersäure und Wasser enthält, werden noch bei 0,2 ml Serum gut auswertbare Potentialsprünge beobachtet. 100 mVal Chlorid werden auf 1% genau erfaßt. Ein Proteingehalt stört die Analyse nicht. K. CRUSE

Die Mikromethode zur Bestimmung von Jod in Blut von E. KLEIN[2] wurde von H. SPITZY[3] unter Verwendung von radioaktivem ^{131}J nachgeprüft. Bei dem genannten Verfahren wird das Untersuchungsmaterial mit Schwefelsäure und Chromsäure in Gegenwart von Cer(IV)-sulfat aufgeschlossen, wobei organisch und anorganisch gebundenes Jod in Jodsäure übergeführt werden. Nach deren Reduktion mit phosphoriger Säure wird das Jod in einer Spezialapparatur in eine alkalische Vorlage hineindestilliert und dann colorimetrisch auf Grund der Katalyse der Cer(IV)-sulfat-Arsenigsäurereaktion bestimmt. Nach E. KLEIN[2] sollen mit diesem Verfahren noch 0,005 μg Jod erfaßt werden, so daß für eine Bestimmung nur 2 ml Plasma bzw. Serum erforderlich sind. — SPITZY stellte fest, daß bei der angegebenen Destillationsdauer von 15 min — in den ersten 5 min Zusatz der phosphorigen Säure zur Reduktion — je nach der Heizungsintensität stark variierende Jodausbeuten erhalten werden. Unter den von E. KLEIN[2] angegebenen Bedingungen gingen nur etwa 79% Jod in das Destillat über. Untersuchungen mit markiertem Jod ergaben, daß 1,4—2% an der Glasapparatur adsorptiv hafteten; der Rest wurde in der Veraschungslösung gefunden. Auch durch Abänderung der Versuchsbedingungen (erhöhter Zusatz von phosphoriger Säure, wiederholte Destillationen, Verwendung anderer Reduktionsmittel) konnte keine Verbesserung erzielt werden. Der Zusatz von Wasserstoffperoxyd[4] zur reduzierten Veraschungslösung be-

[1] Recueil Trav. chim. Pays-Bas (Amsterdam) **74**, 522—529 (1955). Sheffield (Engl.).

[2] Biochem. Z. **322**, 388 (1952); **326**, 9 (1954); Röntgen- und Laborat.-praxis **6**, 120 (1953); vgl. diese Z. **142**, 396 (1954); **148**, 51 (1955).

[3] Mikrochim. Acta (Wien) **1955**, 130—133. Paracelsus-Inst., Bad Hall, Österreich.

[4] MORAN, J. J.: Analyt. Chemistry **24**, 378 (1952); vgl. diese Z. **139**, 72 (1953).

wirkte nur eine scheinbare Erhöhung der Jodausbeute durch Beseitigung oder Schwächung der Einflüsse von Stoffen, die ins Destillat übergehen und die katalytische Reaktion stören. Beim Aufschluß traten keine Jodverluste ein, auch wenn die angegebene Maximaltemperatur (150° C) um 100° C überschritten wurde. Die katalytische photometrische Bestimmung ist analytisch ebenfalls einwandfrei.

H. Sperlich

Eisenbestimmung in Serum und Plasma. F. Scheibl und D. Saffer[1] führen die *Bestimmung von Serumeisen* mit o-Phenanthrolin durch. Nach einer Diskussion über Reproduzierbarkeit und Konstanz der Meßwerte geben sie folgende *Arbeitsvorschrift* an: 2 ml Serum werden mit 1 ml Salzsäure (1:1) versetzt, nach 10 min mit 2 ml 20%iger Trichloressigsäure enteiweißt und filtriert. 2,5 ml Filtrat werden nach Zugabe eines Tropfens p-Nitrophenollösung mit konz. Ammoniak bis zur gerade auftretenden Gelbfärbung alkalisiert, sofort mit 0,2 n Schwefelsäure neutralisiert und mit einem Überschuß von 0,6 ml 0,2 n Schwefelsäure versetzt. Die Lösung bleibt 30 min stehen. Nach Zugabe von 0,5 ml 2%iger Hydrochinon- und 0,5 ml 0,5%iger o-Phenanthrolinlösung wird mit bidest. Wasser auf 7 ml aufgefüllt. Nach 10 min mißt man die Extinktion im Beckman-Quarz-Spektralphotometer Modell DU bei 510 mμ (oder mit dem Pulfrich-Photometer, Filter S 50) gegen eine unter gleichen Bedingungen hergestellte Vergleichslösung. Die Methode erlaubt die Bestimmung von 0,2—5 μg Fe je Milliliter Serum. H. Specker

T. H. Bothwell und B. Mallett[2] geben für die *Bestimmung des in Plasma und Serum an β_1-Globulin gebundenen Eisens* folgende *Arbeitsvorschrift*. Eine Mischung von 2 ml 2 n Salzsäure und 4 ml Plasma oder Serum wird mit einem Glasrührer gerührt, dann werden 2 ml 20%iger Trichloressigsäure zugesetzt und 45 sec wird weitergerührt. Nach 20 min langem Zentrifugieren mit 2500 U/min entnimmt man 5 ml der überstehenden Lösung, fügt 2 Tropfen 0,4%iger Thioglykolsäure-Lösung, 0,5 ml 0,4%iger 2,2′-Dipyridyl-Lösung und 2,5 ml gesättigter Natriumacetatlösung zu und schüttelt durch. Die Messung der Farbdichte erfolgt in einem Hilger-Absorptiometer mit 520 mμ-Filter gegen Standard-Lösungen mit 2—10 μg Fe in 1,25 ml 2 n Salzsäure und 1,25 ml 20%iger Trichloressigsäure, die mit Wasser auf 5 ml aufgefüllt wurden. Mit den Reagentien wird eine Blindmessung durchgeführt. Verff. überzeugten sich unter Verwendung von ^{59}Fe enthaltendem Plasma, daß dieses bei dem beschriebenen Verfahren vollständig in Lösung bleibt und somit restlos erfaßt wird. K. Söllner

Die Bestimmung von Eisen 55 und Eisen 59 in biologischen Proben ohne elektrolytische Eisenabscheidung beschreiben J. H. Rediske, R. F. Palmer und J. F. Cline[3]. Das Verfahren beruht darauf, daß nach voraufgegangener Veraschung das Eisen mit KSCN in den bekannten tiefroten Rhodanokomplex übergeführt wird, den man mit Äther extrahiert, nach Verdampfen der ätherischen Lösung thermisch zersetzt und mißt. — *Arbeitsvorschrift.* Das getrocknete biologische Material (1—2 g) wird in einem Kjeldahl-Kolben mit konz. Schwefelsäure und 60%iger Perchlorsäure nach dem Verfahren von C. S. Piper[4] aufgeschlossen. Nach dem Klarwerden dampft man überschüssige Säure ab, läßt abkühlen und verdünnt mit Wasser auf etwa 20% H_2SO_4-Gehalt und ein bekanntes Volumen. Aus dieser Lösung entnimmt man einen aliquoten Teil von 1 ml, versetzt mit 10 μg Eisen(III), ergänzt mit Wasser auf 10 ml, gibt 1 ml 20%ige KSCN-Lösung sowie 2 ml eines Gemisches

[1] Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **298**, 272—277 (1954). Univ. Innsbruck.
[2] Biochemic J. **59**, 599—602 (1955). Radcliffe Infirmary, Oxford (England).
[3] Analyt. Chemistry **27**, 849—850 (1955). General Electric Co. Richland, Wash.
[4] Soil and Plant Analysis. Interscience Publishers, New York 1944.

von 1 Tl. Äther + 1 Tl. Isoamylalkohol zu und schüttelt gut durch. Man läßt dann 3—5 min zur Phasentrennung stehen, entnimmt einen geeigneten aliquoten Anteil (0,1—1 ml) der organischen Phase und dampft ihn auf einem Präparatenträger von etwa 38 mm Durchmesser aus rostfreiem Stahl unter der Ultrarotlampe zur Trockne. Die so gewonnenen Präparate werden gezählt, und zwar einmal direkt (Impulszahl = T) und einmal unter Zwischenschaltung eines Absorbers aus 0,63 mg/cm² Chlorkautschuk („rubber hydrochloride") zur Absorption der Aktivität von ^{55}Fe. (Impulszahl = A). Berechnung: T = Impulse/min ^{59}Fe + Impulse/min ^{55}Fe; A = 0,66 Impulse/min ^{59}Fe + 0,015 Impulse/min ^{55}Fe. (Die Faktoren 0,66 und 0,015 bedeuten, daß unter den Versuchsbedingungen 66% bzw. 1,5% der jeweiligen Strahlung durchgelassen und gemessen werden.) Die Menge an vorhandenem ^{55}Fe und ^{59}Fe ergibt sich dann nach den Gleichungen: Impulse/min ^{55}Fe = (0,66 T — A)/0,645; Impulse/min ^{59}Fe = (A — 0,015 T)/0,645. — Die Brauchbarkeit des Verfahrens wird durch Beleganalysen bestätigt (vgl. auch J. H. Rediske[1]).

F. Weigel

Ein Verfahren zur Mikrobestimmung von Kobalt in biologischem Material, insbesondere in Knochen, wird von B. E. Saltzman[2] beschrieben. Es beruht auf der Komplexbildung von Kobalt mit 1-Nitroso-2-naphthol, wobei durch Zusatz von Natriumcitrat die Bildung eines störenden Niederschlags bei der Untersuchung aschereichen Materials verhindert wird. Der Komplex wird mit Chloroform extrahiert, durch Waschen mit verdünnter Salzsäure gereinigt und schließlich mit Salpetersäure verascht. Der Kobaltgehalt wird photometrisch mit Nitroso-R-salz bestimmt. — *Arbeitsweise. Natriumcitratlösung.* 500 g des Salzes (mit $5^1/_2$ H_2O) werden in einem Scheidetrichter in dest. Wasser zu fast 1 l gelöst und mit wenig Natriumhydroxyd auf p_H 9 eingestellt. Dann extrahiert man die metallischen Verunreinigungen mit einer konzentrierten Lösung von Dithizon in Chloroform, bis der Extrakt grün wird. Man stellt mit wenig Citronensäure auf p_H 7 ein und extrahiert den Dithizonüberschuß aus der Lösung mit Chloroform, bis man einen farblosen Extrakt erhält. Die wäßrige Phase wird abgetrennt und auf 1 l aufgefüllt. — *Veraschen der Probe.* Gewebe und Knochen können trocken oder feucht verascht werden und zwar Mengen über 15 g zweckmäßig trocken bei Temperaturen bis 700° C in Quarz- oder in Porzellanschalen mit intakter Glasur, Mengen unter 15 g feucht mit redestillierter Salpetersäure. Knochen werden zunächst durch 1—2stündiges Erwärmen auf dem Wasserbad in Salpetersäure (1 + 1) gelöst. Diese Lösung sowie Gewebeproben werden in 250 ml-Bechergläsern folgendermaßen mit kleinen Portionen Salpetersäure behandelt. Nachdem das Wasser bei möglichst niedriger Temperatur (Heizplatte) verdampft ist, bedeckt man das Becherglas mit einem Uhrglas. Wenn die Reaktion nachläßt, kühlt man ab und setzt die nächste Portion Salpetersäure zu. Die Temperatur der Heizplatte wird allmählich bis zur vollen Hitze (400° C) gesteigert und die Salpetersäureportionen werden bis auf diejenige Menge verringert, mit der die Asche vollständig durchfeuchtet werden kann. In jedem Fall soll eine weiße Asche zurückbleiben. — *Abtrennung des Kobalts.* Die Asche wird in der Schale oder im Becherglas in einem Überschuß von Salpetersäure (1:1) gelöst und 1—2 Std auf dem Wasserbad (nicht auf der Heizplatte!) zur Trockne eingedampft, wonach man sie sofort vom Wasserbad entfernt. Gewebeasche wird dann in 25 ml Phosphorsäure (1:49) gelöst; Knochenasche wird in 25 ml Wasser unter Zusatz von 0,25 ml Portionen Salpetersäure vorsichtig erhitzt, bis man eine klare Lösung erhält. Nach dem Abkühlen stellt man die auf die eine oder andere

[1] Aecu-732 [Nucl. Sci. Abstr. **4**, 459 (1950)].

[2] Analyt. Chemistry **27**, 284—287 (1955). Dptm. Health, Educat, Welfare, Cincinnati, Ohio (USA).

Art erhaltene Lösung in einen Scheidetrichter mit Natriumcitratlösung auf Orangefärbung (p_H 3—4) von zugesetztem Methylorange ein. Dann setzt man 5 ml 1-Nitroso-2-naphthollösung hinzu (2,5 g in 125 ml Eisessig gelöst und mit dest. Wasser auf 250 ml aufgefüllt) und läßt 1 Std unter gelegentlichem Umschütteln stehen. Der entstandene Kobaltkomplex wird dann durch je 3 min langes, sehr kräftiges Schütteln mit 10 ml-Portionen Chloroform extrahiert, bis man einen farblosen Extrakt erhält (gewöhnlich 3×10 ml). Die in einem zweiten Scheidetrichter vereinigten Extrakte werden 2 min lang mit 25 ml verd. Salzsäure (1:99) geschüttelt und dann in ein 125 ml-Becherglas abgelassen. Die verd. Salzsäure wird nochmals 1 min mit 5 ml Chloroform durchgeschüttelt, das ebenfalls in das Becherglas abgelassen wird. Dann dampft man das Chloroform auf dem Wasserbad ab und löst den Rückstand unter Erwärmen in 0,5 ml Salpetersäure. Man versetzt mit 1 ml 10%iger Natriumsulfatlösung und verdampft auf einer Heizplatte zur Trockne. (Das Natriumsulfat dient als Trägersubstanz für die sehr geringe Aschenmenge und befördert außerdem die Veraschung durch Zurückhalten von Salpetersäure bei höheren Temperaturen.) Der Rückstand wird in 1 ml Salpetersäure unter Erhitzen gelöst. Man verteilt die Lösung gleichmäßig über den Boden des Becherglases und erhitzt weiter bis zur Ausscheidung und Zersetzung der Salze. Dann steigert man die Temperatur allmählich auf 400° C unter portionsweisen Zusatz von je 0,5 ml Salpetersäure (insgesamt 3—4 ml), bis man eine weiße Asche erhält. Man löst dann nochmals in 0,5 ml Salpetersäure, prüft, ob die Lösung vollkommen farblos und nicht ölig ist und trocknet bei möglichst niederer Temperatur ein. Eine etwaige Färbung deutet auf unvollständige Zerstörung des Kobaltkomplexes. — *Bestimmung des Kobalts.* Man löst die Asche in 5 ml Phosphorsäure (1:49), versetzt mit 1 ml 0,1%iger wäßriger Lösung von Nitroso-R-salzreagens und 2 ml Natriumacetatlösung (50 g Trihydrat in dest. Wasser zu 100 ml gelöst) und mischt nach jedem Zusatz durch. Man erhitzt genau 3 min auf dem Wasserbad, setzt 0,75 ml konz. Salzsäure zu und erhitzt weitere 2 min (Stoppuhr!). Dann kühlt man ab, füllt auf 10 ml auf und photometriert bei 530 mμ gegen dest. Wasser. Die Messung beim Absorptionsmaximum (418 mμ) gab schlechte Resultate, da das überschüssige Nitroso-R-salz hier ebenfalls stark absorbiert. Bei jeder Bestimmung läßt man einen Leerwert mitlaufen. Die Farblösung ist mindestens einen Tag haltbar. — Zur Aufstellung der Eichkurve werden 0—5 ml einer Kobaltsulfatlösung in 1:49 verd. Phosphorsäure (1 ml = 5 μg Co). mit verd. Phosphorsäure auf je 5 ml ergänzt. Bei der Untersuchung von 25 g Knochen wurden zugesetzte Mikrogrammengen Kobalt zu 95% wiedergefunden. In normalen Knochen- und Gewebeproben wurden folgende Kobaltmengen (μg/g) ermittelt: Kaninchenknochen 0,03, Ratten- und Meerschweinchenknochen 0,06, Kaninchenniere 0,11, Kaninchenlunge und Kaninchenleber 0,03. H. Sperlich

Kolloide Glassuspensionen als Standards für die Messung der Thymoltrübung beschreibt J. G. Reinhold[1]. Zur Ausführung der Trübungsreaktion fügt man 0,1 ml Serum zu 6 ml Thymol-Barbitalreagens von 25° C, das nach N. F. Maclagan[2] oder J. G. Reinhold und V. L. Yonan[3] hergestellt wird. Nach 30 min mißt man die Trübung mit einem Spektrophotometer oder Photocolorimeter. Die kolloide Glassuspension wird erhalten, indem man eine Reagensflasche von 1 l Inhalt zu $^1/_4$ mit Glasstückchen füllt, diese mit Wasser bedeckt und das Ganze dann 8—12 Std auf einer Schüttelmaschine kräftig schüttelt, bis eine milchige Suspension erhalten wird. Diese läßt man 72 Std absitzen oder zentrifugiert und dekantiert dann die

[1] Analyt. Chemistry **27**, 239—244 (1955). Univ. Philadelphia 4, Pa. (USA).
[2] Brit. J. exp. Pathol. **25**, 234 (1944).
[3] Clin. Chemist **5**, 82 (1953).

überstehende Flüssigkeit ab, die fein verteiltes Material enthält. Die Suspension ist lange Zeit beständig. Die Eigenschaften der Suspension und ihre Anwendung werden genau beschrieben. A. KURTENACKER

Eine papierchromatographische Trennungsmethode für die in Nierengewebe vorkommenden Phosphorsäureester wurde von E. GERLACH und E. WEBER[1] ausgearbeitet. Der Trichloressigsäure-Extrakt des Nierengewebes wird zunächst durch eine modifizierte Barium-Alkohol-Fällung nach G. A. LE PAGE[2] vorfraktioniert. 2 der erhaltenen 3 Fraktionen werden papierchromatographisch aufgearbeitet, wobei sich die Verf. im wesentlichen bereits bekannter Techniken bedienen. Die Einzelheiten der ausführlich beschriebenen Methode mögen im Original eingesehen werden. H. SPERLICH

Die Procainesterase in Blutserum bestimmt M. ŠEVELA[3] mittels der Reaktion der *p-Aminobenzoesäure* mit *p-Dimethylaminobenzaldehyd* durch Colorimetrie der Lösung des Reaktionsproduktes. Das *Procain*, das ebenfalls unter Gelbfärbung mit dem Reagens reagiert, entfernt man vor dessen Zugabe durch Ausschütteln mit Äther aus der alkalischen Lösung. — *Arbeitsweise.* Zu 4,5 ml Serum, das im Wasserbad auf 37° C gehalten wird, fügt man das gleiche Volumen einer 0,1%igen Procainhydrochloridlösung von gleicher Temperatur. Nach dem Vermischen pipettiert man stets 2 ml des Reaktionsgemisches nach 5, 10, 20 und 30 min in Zentrifugiergläser ab, in denen sich 6 ml Wasser und 2 ml 20%ige Trichloressigsäurelösung befinden. Man vermischt, läßt einige Zeit stehen und pipettiert nach dem Abzentrifugieren des ausgefällten Niederschlages je 6 ml Zentrifugat in 50 ml-Scheidetrichter. Zum Inhalt eines jeden setzt man 1,2 ml 1,3 n Natronlauge und 6 ml Äther und schüttelt wenigstens 1 min lang. Das nicht zerlegte Procainhydrochlorid wird vom Äther aufgenommen. Hierauf versetzt man 6 ml der wäßrigen Lösung mit 2 ml Reagens (1 g p-Dimethylaminobenzaldehyd gelöst in 70 ml 96 Vol-%igem Äthanol und 30 ml 1,0 m Citratpuffer, p_H 1,17), und photometriert die Gelbfärbung bei 455 mμ gegen eine Blindlösung aus 6 ml dest. Wasser und 2 ml Reagens. Die durch die Esterase freigesetzte Menge p-Aminobenzoesäure, gegebenenfalls umgerechnet auf Prozente hydrolysierten Procainhydrochlorids, liest man aus einer Eichkurve ab, die man mit p-Aminobenzoesäure unter den gleichen Bedingungen erhält. Denn es ist mit Verlusten beim Enteiweißen zu rechnen, ebenso bietet das Ausäthern eine Fehlerquelle. H. FREYTAG

Für die Bestimmung von Cholinesterase verwendet E. PENNINI-DE-DE-VEGA[4] im wesentlichen das Verfahren von G. E. HALL und C. C. LUCAS[5]. — *Ausführung.* Es wird zunächst das Serum durch spontane Koagulation bei normaler Temperatur äußerst sorgfältig gewonnen. In einem Kolben von 50 ml Fassungsvermögen werden zu 10 ml dest. Wasser (CO_2-frei) 1 ml einer 5%igen Chloridlösung von Acetylcholin gegeben. Man erwärmt auf dem Wasserbad auf 37,5° C und bringt dann auf p_H 8 mit einer 0,01 n NaOH-Lösung mit Kresolrot als Indicator. Ebenso wird ein Leerversuch angesetzt. Nun gibt man 0,5 ml Serum zu, stellt in ein Wasserbad (37,5° C) und titriert für 20 min alle 5 min mit 0,01 n Natronlauge auf p_H 8. Die Differenz

---

[1] Arch. exper. Path. u. Pharmakol. **224**, 496—522 (1955). Univ. Heidelberg.

[2] Manometric techniques and tissue metabolism. Ed. by W. W. Umbreit, R. H. Burris a. J. F. Stauffer, Burgess Publ. Co., Minneapolis.

[3] Scripta med. (Brno) **28**, 33—38 (1955) [Tschechisch] Univ. Brünn.

[4] Rev. Asoc. bioquím. argent. **19**, 233—239 (1954).

[5] J. Pharmacol. exp. Therapeut. **61**, 10 (1937).

der verbrauchten 0,01 n NaOH-Lösung gegen den Leerversuch auf 10 min bezogen ergibt den Bezugswert für den Gehalt an Cholinesterase. Es wurden nach dieser Methode Cholinesterasebestimmungen an gesunden und kranken Menschen beiderlei Geschlechts von 17—60 Jahren durchgeführt. Eine Tabelle gibt einen Überblick über die Untersuchungen. IRMGARD SCHWEITZER

Cholindehydrogenase. Eine Untersuchung der Cholinoxydase ergab, daß dieses System aus Cholindehydrogenase, Cytochrom C und Cytochromoxydase besteht. H. J. EICHEL[1] beschreibt ein spektrometrisches Verfahren zur *Bestimmung kleiner Mengen Cholindehydrogenase.* Als Enzymquelle dient die Leber und Niere von männlichen Wistar-Ratten, die in Phosphatpuffer in der Kälte bei p_H 6,8 homogenisiert werden. Als Wasserstoffakzeptor dient Cyanoferrat III, welches im Verlauf des Versuches zu Cyanoferrat II reduziert wird. Die Extinktion wird alle $2\frac{1}{2}$ min bei 550 mμ (25° C) bestimmt und zum Schluß etwas $Na_2S_2O_4$ zugesetzt, um eine vollständige Reduktion zu erreichen. Die Ferricytochromkonzentration wird nach der Gleichung berechnet: $\frac{D_t - D_\infty}{E_o - E_r} \cdot l$. D_∞ ist der voll reduzierte Wert, D_t die Messung zu einer bestimmten Zeit, E_o und E_r sind die molaren Extinktionen für vollständig oxydiertes und reduziertes Cytochrom C bei 550 mμ für 1 cm Schicht. Man erhält lineare Eichkurven sowohl für die Zeit wie für steigende Gewebsextrakte. Das System setzt sich zusammen aus 0,1 ml 0,72 m Cholinchloridlösung, etwa 0,1 ml einer Homogenatverdünnung 1 : 24, 0,1 ml 0,03 m NaCN-Lösung, 1,0 ml 0,2 m Phosphatpuffer p_H 6,8, Wasser auf 3,0 ml und einer Cytochromkonzentration von $2{,}7 \cdot 10^{-5}$ m. Die Kontrollen enthalten dest. Wasser. Die Reaktion wird bezüglich der Wirkung der Substratkonzentration und des p_H-Wertes genau untersucht. Es wird weiter darauf hingewiesen, daß Nicotinsäureamid die Reaktion hemmt. Für Leber wird bei 25° C für 167 mg Feuchtgewicht ein Sauerstoffverbrauch von 35—54 μl/l, für die Niere von 21—38 μl/l gefunden. Bei 35° C ist der Sauerstoffverbrauch etwas höher. Die Reaktionskonstante $K \cdot 10^{-2}$ von Cytochrom C, reduziert auf die Minute, beträgt für Leber 0,63 bis 1,26, für Niere 0,90 bis 1,44. K. HINSBERG

Zur colorimetrischen Bestimmung des Amylasegehaltes im Blut gibt V. GARCÍA-MORATO-CASTAÑO[2] einen schnell ausführbaren, einfachen Test an. — *Arbeitsvorschrift.* In 2 Zentrifugengläschen gibt man je 0,5 ml Serum und 1 ml NaCl-Lösung (10 g NaCl, 3 ml 0,1 n Salzsäure mit Wasser auf 1 l) und erwärmt 5 min auf 40° C im Wasserbad. Zum Zentrifugenglas 1 fügt man 2,5 ml einer genau 1%igen Stärkelösung und läßt dann beide Gläschen 30 min im Wasserbad. Anschließend fügt man zu beiden Proben 0,5 ml 5%ige $CuSO_4$-Lösung und 0,5 ml 6%ige Natriumwolframatlösung und gibt zur Probe 2 2,5 ml der Stärkelösung. Nach 3 min Ruhezeit wird bei 3000 U/min über 3 min hin zentrifugiert. Von der farblos klaren, überstehenden Flüssigkeit gibt man je 3 ml in geschliffene Gläschen von 5—10 ml Fassungsvermögen und je 1,5 ml 1,6%ige $CuSO_4$-Lösung und 1,5 ml FEHLING 2, dann füllt man mit Wasser auf und zentrifugiert bei 3000 U/min. Die Flüssigkeit gießt man ab, löst das abgeschiedene Cu_2O mit 2 Tr. konz. Salzsäure, gibt 0,5 ml 4%ige Sodalösung und 0,3 ml Serum zu, füllt auf 5—10 ml auf und colorimetriert nach 15 min bei 575 mμ. Die Differenz zwischen der Extinktion der Probe Nr. 1 und Nr. 2 ergibt die Diastaseaktivität der fraglichen Probe. Das Resultat wird in Milligramm Glucose/100 ml Serum wiedergegeben. IRMGARD SCHWEITZER

[1] J. biol. Chemistry **207**, 647—655 (1954). Hahnemann Med. College, Philadelphia, Pa. (USA).

[2] Laboratorio (Granada) **9**, 25—32 (1954).

Zur spektrophotometrischen Bestimmung der Barbiturate in Körperflüssigkeiten (Serum) extrahiert man nach P. Lous[1] mit Chloroform und schüttelt den Extrakt mit einem Puffer von p_H 10. Das Barbiturat geht in die Pufferlösung, die man bei 225—300 mμ mißt. Nun stellt man durch Zufügen von Salzsäure auf p_H 2 um und mißt die Absorption nochmals. Die Differenz der Absorptionen bei 240 mμ (Absorptionsmaximum) in alkalischer und saurer Lösung ist ein Maß für den Gehalt an Barbiturat. — *Ausführung.* 3 ml Serum werden 3 min mit 25 ml Chloroform geschüttelt; die Chloroformschicht wird durch ein trockenes Filter filtriert, um Spuren Wasser zu entfernen. Hierauf schüttelt man 20 ml der Chloroformlösung 3 min mit 5 ml Pufferlösung p_H 10 (60 ml „Borat" Sörensen + 10 ml „NaOH" + 90 ml Wasser), verwirft die Chloroformschicht und zentrifugiert die Pufferschicht. 3,5 ml davon werden in einer 10 ml-Quarzküvette bei 225, 235, 238, 240, 242, 245, 255, 265, 280, 300 mμ gegen die reine Pufferlösung gemessen. Dann fügt man 0,025 ml ungefähr 6 n Salzsäure zu und wiederholt die Messungen. Der Barbituratgehalt wird einer Eichkurve entnommen, in welcher die Barbituratkonzentration gegen die Differenz der Ablesungen bei p_H 10 und p_H 2 aufgetragen ist. Wenn die optische Dichte bei p_H 10 bei 240 mμ größer ist als 1,000, wird der Inhalt der Küvette mit Pufferlösung verdünnt und diese Verdünnung dient zur Berechnung. Die Methode ist bei Einzelbestimmungen auf etwa 7,5% genau. Bei Vergleichen mit der gravimetrischen Methode von F. Halstrøm[2] ergab sich befriedigende Übereinstimmung[3].

H. Sperlich

Bestimmung von Milontin (N-Methyl-α-Phenylsuccinimid). A. J. Glatzko, W. A. Dill, L. M. Wolf und Ch. A. Miller[4] bestimmen Milontin, welches von C. A. Miller und L. M. Long[5] dargestellt wurde und das spasmolytische Aktivität besitzt, mit Hilfe einer fluorimetrischen Methode. Die biologischen Flüssigkeiten, wie Blut, Serum oder Urin, werden mit Chloroform auf einer Schüttelmaschine extrahiert, dann wenn nötig zentrifugiert und in einer Mischung mit Methanol und Boratpuffer mit einer Jodlösung oxydiert. Dabei geht Milontin in das fluorescierende N-methyl-α-phenylmalonsäureimid über, welches eine dem Chinin ähnliche Fluorescenz hat (etwa die Hälfte der Intensität des Chinins bei gleicher Konzentration). Die Messungen wurden mit einem Coleman-Photofluorimeter Modell 12 unter Benützung von Bl-PCl-Filtern durchgeführt. Die Methode besitzt eine erhebliche Spezifität und die Empfindlichkeit: 0,4—0,8 μg. Umwandlungsprodukte des Milontins stören nicht. Es wurde so der Blutspiegel bei Menschen nach 1—2 und nach 8 bis 12 Std bestimmt. Nach dieser Zeit ist das Milontin im Blut verschwunden. Ferner wurde in Rattenversuchen die Verteilung des Milontins in verschiedenen Geweben bestimmt, wobei als Kontrolle radiaktiv mit ^{14}C indiziertes Milontin verwendet wurde. Die Konzentration in den verschiedenen Geweben war ziemlich gleichförmig und ähnlich denen im Blutserum mit der Größenordnung: 10—100 μg/100. Nur Spuren von freiem Milontin wurden im Urin von Ratten entdeckt. Die Umwandlungsprodukte von Milontin wurden mit Hilfe der Papierchromatographie ermittelt und hauptsächlich als Hydrolysenprodukte, bei welchen der Succinimidring geöffnet wird.

J. Eisenbrand

---

[1] Acta pharmacol. toxicol. (Kopenhagen) **6**, 227 (1950). Univ. Kopenhagen.

[2] Halstrøm, F.: Om Stofidentifikation; den Forensiske Kemi. Copenhagen 1940.

[3] Lous, P.: Acta pharmacol. toxicol. (Kopenhagen) **10**, 134—146 (1954).

[4] J. Pharmacol. exp. Therapeut. **111**, 413—424 (1954). Parke, Davis and Comp., Detroit, Mich. (USA).

[5] J. Pharmacol. exp. Therapeut. **103**, 54 (1951).

Die Aminosäure-Zusammensetzung von Blutserum bestimmt H. Olberg[1] papierchromatographisch nach folgender Methode: Blutserum (z. B. durch Herzpunktion von Mäusen gewonnen) wird mit der dreifachen Menge 3%iger Trypsinlösung 60—70 Std bei 37 -40° C hydrolysiert. Auf einem Sch. & Sch.-Papier Nr. 2045b von 30 × 30 cm wird zweidimensional chromatographiert, wobei die mobile Phase in der 1. Richtung aus n-Butanol-Eisessig-Wasser (40 + 10 + 10), in der 2. Richtung aus 80%igem Phenol + NH_3 besteht. Die Sichtbarmachung der Aminosäuren erfolgt durch Behandeln mit Ninhydrin und den üblichen Spezialfärbemitteln.

K. Söllner

Die Bestimmung von Kreatinin in Plasma, Serum oder Urin auf Grund der Jaffé-Reaktion (Farbreaktion mit Natriumpikrat in alkalischem Milieu) wurde von J. A. Owen, B. Iggo, F. J. Scandrett und C. P. Stewart[2] sehr eingehend untersucht. Es ergab sich, daß besonders der p_H-Wert der Lösung und die Art der Eiweißfällung maßgebenden Einfluß auf die Analysenwerte haben. Die Anwendung von NC-Bacterium (Corynebacterium ureafaciens)[3] oder von Lloyds Reagens (hydratisiertes Aluminiumsilicat)[4] erhöht die Spezifität der Bestimmung. Auf Grund ihrer Untersuchungen empfehlen die Verff. folgende *Arbeitsweise. Kreatininbestimmung im Serum:* Man versetzt 2 Vol Serum mit 3 Vol Wasser, 1 Vol 10%iger $Na_2WO_4 \cdot 2\,H_2O$-Lösung und 2 Vol 0,66 n Schwefelsäure, läßt 30 min stehen und filtriert. 5,0 ml des Filtrates und 0,5 ml gesättigte Oxalsäurelösung werden dann in einem konischen Zentrifugenglas mit 98—103 mg Lloyds Reagens 10 min geschüttelt; anschließend wird 10 min zentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit möglichst weitgehend entfernt. Ein Wasserblindwert und 2 Standards (200 und 400 μg/100 ml Kreatinin) werden mitverarbeitet. Verdünnter *Urin* wird ebenso behandelt. Man stellt nun eine alkalische Pikratlösung aus 5,5 ml 2,5 n NaOH-Lösung und 27,5 ml bei 18—20° C gesättigter Pikrinsäurelösung durch Verdünnen mit Wasser auf 100 ml her und verrührt 7,5 ml dieser Lösung sofort nach der Herstellung mit dem Niederschlag im Zentrifugenglas. Man schüttelt 10 min, zentrifugiert 10 min, bringt im Wasserbad auf 20° C und mißt dann die Absorption bei 520 mμ in 20 mm-Küvetten. Ausgewertet wird an Hand einer mit Standard-Kreatininlösungen hergestellten Eichkurve.

Nach L. Jacobsson und L. Paulsen[5] besitzen *Lösungen von Kreatinin* in 80%igem Methanol, 80%igem Äthanol oder in Butanol bei 235—236 mμ ein Absorptionsmaximum, das zur photometrischen Bestimmung herangezogen werden kann. Kreatin hat bei dieser Wellenlänge keine nennenswerte Extinktion.

Hildegard Telschow

Zur colorimetrischen Bestimmung von Glutathion im Blut empfehlen L. Rausch und H. Graul[6] folgende *Arbeitsweise.* 2 ml Blut werden mit 7 ml Wasser geschüttelt und dann 5 min stehengelassen. Während dieser Zeit wird ein Kontrollversuch von 11 ml Wasser + 1 ml Natriumnitroprussiatlösung angesetzt. Das verdünnte Blut wird mit 6 ml 5%iger Metaphosphorsäurelösung geschüttelt, 5 min stehengelassen und durch ein trockenes Filter filtriert. 2 ml Filtrat werden mit 8 ml gesättigter Natriumchloridlösung und 1 ml m Ammoniaklösung gemischt und

[1] Naturwissenschaften **42**, 211—212 (1955). Univ. Bonn.

[2] Biochemic. J. **58**, 426—437 (1954). Univ. Edinburgh (Schottland).

[3] Dubos, R. and B. F. Miller: J. biol. Chemistry **121**, 427 (1937).

[4] Gaebler, O. H.: J. biol. Chemistry **89**, 451 (1930); Hangen, H. N., u. E. M. Blegen: Scand. J. clin. Lab. Invest. **5**, 58 (1953).

[5] Scand. J. clin. Lab. Invest. **7**, 32—34 (1955). Sahlgrens Hosp. Gothenburg.

[6] Ärztl. Forsch. **6**, I, 167 (1952). Univ. Münster.

sofort mit 1 ml 2%iger wäßriger Natriumnitroprussiatlösung versetzt. Man läßt entweder bei konstanter Temperatur in einer Mantelküvette oder weniger genau bei nicht kontrollierter Temperatur stehen und liest nach einer bestimmten Zeit (5 min) unter Verwendung des Filters S 53 im Stufenphotometer ab. Um genaue Ergebnisse zu erhalten, sind verschiedene im Original angegebene Einzelheiten zu berücksichtigen. — In einer neuen Arbeit haben L. Rausch und S. Ritter[1] die vorstehende Methode für das Photometer Elko II und das WEKA-Photozellencolorimeter umgearbeitet. Die Verff. geben dem Elko II den Vorzug. K. Hinsberg

Die Chromatographie von Proteinen an Calciumphosphatsäulen schildert A. Tiselius[2] in Fortsetzung früherer Arbeiten[3]. Calciumchlorid (0,5 m) wird bei Raumtemperatur mit einem Überschuß von Dinatriumphosphat (0,5 m) langsam unter Rühren gefällt. Der Niederschlag wird mehrmals mit Dinatriumphosphat (Konzentration wie bei der Verwendung für die Säule) gewaschen und im Gleichgewicht mit dieser Lösung aufbewahrt. Die Mischung wird in ein Glasrohr (unten mit Glaswolle verstopft) eingegossen, dann läßt man unter einem Druck von 0,4 Atm. absitzen. Eine Säule von 80 mm Länge und 15 mm Durchmesser hat eine Durchlaufzeit ohne Außendruck von 1—3 ml/Std. Die Versuche wurden teils mit gefärbten Proteinen: Phycoerythrin und Phycocyan von Ceramium rubrum[3], teils mit Kohlenoxydhämoglobin durchgeführt. Zur Sichtbarmachung wurden die Säulen im reflektierten UV-Licht in der Nähe des Absorptionsmaximums der Proteine (260—280 mμ) photographiert. Zu diesem Zwecke bestanden die Röhren aus Quarzglas; sie wurden mit zwei Philipps-Hg-Lampen 93110 E beleuchtet. Die Proteine (10 mg/10 g feuchtes Säulenmaterial) werden in 0,005 m oder 0,01 m Na_2HPO_4-Puffer gelöst. Eluiert wird mit Na_2HPO_4-Puffer in ansteigenden Konzentrationen, die anfallenden Proben werden im UV-Licht analysiert. Es ergibt sich für alle Proteine eine scharfe und charakteristische Abhängigkeit der Eluierbarkeit von der Na_2HPO_4-Konzentration. So zeigt Phycocyan beim Eluieren mit 0,02 m Na_2HPO_4-Lösung keine Bewegung auf der Säule, während es mit 0,04 m Na_2HPO_4-Lösung als scharfe Zone wandert. Für Phycoerythrin liegt der Elutionsbereich bei 0,005—0,008 m, für Kohlenoxydhämoglobin bei 0,04—0,05 m Na_2HPO_4-Lösung, für Tabakmosaikvirus bei 0,10—0,12 m Phosphatpuffer (p_H 6,7) usw. Auf Grund dieser Unterschiede ist es möglich, Eiweißkörper auf der Calciumphosphatsäule voneinander scharf zu trennen. Hildegard Telschow

In einer Übersicht über die Elektrophorese und Chromatographie von Eiweißkörpern und Polypeptiden hat A. Tiselius[4] über neue in Uppsala erzielte Ergebnisse und dort entwickelte neuere Geräte berichtet. Neben der „freien Elektrophorese" von Blutserum im U-Rohr wird die Zonenelektrophorese auf Filterpapier, insbesondere die Elektrophorese in der vertikalen Cellulose- oder Stärkesäule behandelt, auf ihre Eignung zur Trennung von Vitaminen (Thiaminphosphaten, B_6-Modifikationen in Acetatpufferlösung) und auf ihre Bedeutung zur Bestimmung absoluter Wanderungsgeschwindigkeiten eingegangen und schließlich auf ihr noch anhaftende Mängel (Grenzflächenanomalien, Polarisationen) hingewiesen. Auch die kontinuierliche Elektrophorese und ihre jüngste Weiterentwicklung durch I. Brattsten[5] ist erwähnt. — Ausführlicher wird die Chromatographie von hochmolekularen Substanzen und die präparative Ausgestaltung in der Protein- und Polypeptid-Chemie behandelt. Hier sind besonders die Fortschritte hervorgehoben, die

[1] Klin. Wschr. **1953**, 797—798.
[2] Ark. Kemi (Stockholm) **7**, 443—449 (1954). Univ. Uppsala (Schweden).
[3] Swingle, S. M., and A. Tiselius: Biochemic. J. **48**, 171 (1951).
[4] Angew. Chem. **67**, 245—251 (1955). Univ. Uppsala (Schweden).
[5] Ark. Kemi (Stockholm) **8**, 205 (1955), vgl. diese Z. **149**, 123 (1956).

durch die Einführung des Calciumphosphats als Adsorptionsmittel erzielt wurden[1]. Zur Identifizierung der Zonen farbloser Substanzen soll zweckmäßig die laufende Beobachtung im UV-Licht während einer Gradientelution erfolgen. Sie läßt sich nach neueren Arbeiten in Uppsala auch mittels Fernsehkamera verfolgen. Die Vorteile der Aussalzungsadsorption lassen erwarten, daß auch die Trennung besonders hochmolekularer Substanzen gelingen wird, die heute noch bei einem Molekulargewicht von 6 Millionen (Hämocyanin) ihre obere Grenze besitzt. K. Cruse

Papierelektrophorese von Proteinen. P. Dubost und S. Pascal[2] haben eine *papierelektrophoretische Analyse der Serumproteine* nach E. L. Durrum[3] in der Apparatur von M. Macheboeuf, P. Rebeyrotte und M. Brunerie[4] an Leberkranken und an mit Chlorpromazin (Largactil) behandelten Patienten durchgeführt. Nach Aufbringen von 5 μl Serumprobe wird in der feuchten Kammer am V-förmig an einem Reiter frei aufgehängten Papierstreifen (Arches 301), dessen Enden in eine Lösung tauchen, die 0,05 m an Veronalnatrium und 0,01 m an Barbitursäure ist, mit 0,5 mA/cm etwa 4 Std elektrolysiert. Die Zonen werden mit Quecksilbersalzlösung und Bromphenolblau in üblicher Weise gefärbt, das mit Vaselinöl transparent gemachte Papier wird photometriert, die Photometerkurven werden planimetrisch als Gauss-Kurven ausgewertet. Die Ergebnisse lassen erkennen, daß eine Chlorpromazinbehandlung keine charakteristischen Veränderungen der Proteinzusammensetzung verursacht.

D. Wolvius[5] hat eine *quantitative Prüfung der Zuverlässigkeit der Papierelektrophorese bei der Analyse von Harnproteinen* insbesondere an pathologischen Harnen vorgenommen und stellt fest, daß zuverlässige Resultate nur dann erhalten werden, wenn der Proteingehalt mindestens 2% beträgt. — Die Analysen werden an 0,04 ml-Proben auf Whatman-Papier Nr. 1 auf Streifen von 24 cm Länge ausgeführt, die in einer Länge von 20 cm frei hängen. Nur 3—4 Std wird mit 180 V elektrolysiert, so daß sehr kurze Diagramme mit schmalen, aber deutlich getrennten Banden entstehen. Gefärbt wird mit Azocarmin B (Bayer) in Methanol–Eisessig—Wasser (5 : 1 : 4) während 10 min. Anschließend wird dreimal je 5 min mit 10%iger Essigsäure gewaschen, die Banden werden ausgeschnitten, mit 5 ml 0,1 n Natronlauge eluiert und spektralphotometrisch ausgewertet. Aus Verdünnungsreihen von Serumproben geht hervor, daß relativ vergleichbare Mengen Albumin, α-, β- und γ-Globulin nur dann gefunden werden, wenn die Proteinkonzentration mindestens 1,5 bis 2% beträgt und daß bei höheren Verdünnungen der Albumingehalt infolge Adsorption und Schwanzbildung zu niedrig ausfällt. Gegebenenfalls sollen daher Harnproben vor der Elektrophorese durch Dialyse in 3—4 Tagen in Cellophanbeuteln gegen eine 30%ige Lösung von Polyvinylpyrrolidon oder gegen eine 15%ige Oxymethylcelluloselösung konzentriert werden. Eine Veränderung der Relativgehalte tritt bei dieser Vorbehandlung nicht ein.

G. V. Heyndrickx und A. de Vleeschauwer[6] haben die Bedeutung des pH-Wertes und der Zusammensetzung von Pufferlösungen bei der *Elektrophorese von*

[1] Swingle, S. M., and A. Tiselius: Biochemic. J. **48**, 171 (1951); Tiselius, A.: Ark. Kemi (Stockholm) **7**, 443 (1954); vgl. das vorstehende Referat.

[2] Recueil Trav. chim. Pays-Bas (Amsterdam) **74**, 586—590 (1955). Usines Chimiques Rhone-Poulenc, Vitry s/Seine (Frankreich).

[3] J. Amer. chem. Soc. **72**, 943 (1950).

[4] Bull. Soc. Chim. biol. **33**, 1543 (1951).

[5] Recueil Trav. chim. Pays-Bas (Amsterdam) **74**, 596—602 (1955). Univ. Utrecht.

[6] Recueil Trav. chim. Pays-Bas (Amsterdam) **74**, 579—585 (1955). Inst. Sup. Agronom., Gent (Belgien).

Menschenblutserum untersucht. In vergleichenden Messungen an 5 verschieden zusammengesetzten Pufferlösungen erweisen sich folgende als die zweckmäßigsten: I. Pufferlösung nach MICHAELIS in der Modifikation nach E. WIEDEMANN[1] mit p_H 8,9 (3,886 g Natriumacetat-Trihydrat, 2,504 g Kaliumoxalathydrat, 5,886 g Veronalnatrium und 0,073 g Chlorwasserstoff im Liter) und II. abgeänderte Pufferlösung nach L. G. LONGSWORTH[2] (10,310 g Veronalnatrium, 1,842 g Barbitursäure und 2,340 g Natriumchlorid im Liter, p_H 8,6). Beide Pufferlösungen haben die Ionenstärke 0,1. Die bei 5° C einige Tage dialysierten Proben werden nach TISELIUS mit 25 mA in der Apparatur von STRUBIN der Elektrolyse unterworfen, die Diagramme nach der Methode von E. WIEDEMANN[3] analysiert. In beiden Pufferlösungen ist die Beweglichkeit des Albumins hinreichend größer als die des α_1-Globulins, so daß eine deutliche Trennung beider erfolgt. Es gelingt auch die Trennung von γ_2- und δ-Globulin, die im übrigen vom Veronalgehalt abhängt. Der Kochsalzgehalt der Pufferlösung II erübrigt eine Bedeckung der Elektroden mit Salzlösung. K. CRUSE

Bei der qualitativen Analyse auf Antikörper kann es nach F. HAGIHARA[4] mikropapierelektrophoretisch vorteilhaft ausgenutzt werden, daß sie mit Antigenen (Eialbumin) mit Bromphenolblau anfärbbare Niederschläge bilden. Wird Serum der Papierelektrophorese unterworfen, das Pherogramm getrocknet, dann mit verdünnter Antigenlösung senkrecht zur Richtung der elektrophoretischen Wanderung angefeuchtet und schließlich mit Bromphenolblau gefärbt, dann sind auch qualitativ auswertbare Retentiogramme zu erhalten. K. CRUSE

Zur Bestimmung von Glucosamin im Serum benutzen H. SÜDHOF und C. PETROVIC[5] eine Abänderung der Methode von L. A. ELSON und W. T. J. MORGAN[6]. Aus 5 ml 1 : 10 verdünntem Serum fällt man durch Zusatz von 5 ml 10%iger Trichloressigsäure das Eiweiß aus, wäscht es zweimal mit Trichloressigsäure, löst es wieder mit einigen Tropfen 1 n Kalilauge, fügt 5 ml 4%ige Salzsäure hinzu und hydrolysiert im verschlossenen Gefäß 3 Std im kochenden Wasserbad. Das Hydrolysat spült man in einen 25 ml-Meßkolben, neutralisiert mit 2%iger Natronlauge, wobei der Endpunkt durch das Verschwinden einer bei saurer Reaktion bestehenden leichten Opalescenz angezeigt wird, und verdünnt auf genau 25 ml. 5 ml der verdünnten Lösung versetzt man mit 2 ml Acetylacetonlösung (1 ml Acetylaceton in 50 ml 0,5 n Sodalösung gelöst, im Eisschrank 3 Tage haltbar), stellt verschlossen 20 min in siedendes Wasser, kühlt ab, fügt 12 ml 96%igen Alkohol und 2 ml EHRLICHS Reagens (1,6 g p-Dimethylaminobenzaldehyd in 60 ml 96%igem Alkohol + 60 ml konz. Salzsäure) hinzu und ermittelt nach 45 min Stehenlassen die Absorption (1 cm Schichtdicke) bei der Hg-Linie 546 mμ. Zwischen 45 und 150 min bleibt die Absorption konstant, ein Vorteil gegenüber manchen anderen bisher bekannt gewordenen Abänderungen der Methode von ELSON und MORGAN. Zur Auswertung stellt man eine Eichkurve mit 0,05—0,25 mg Glucosaminhydrochlorid in 5 ml Wasser auf. Um unkontrollierbare Einflüsse auszuschalten, läßt man bei jeder Serumuntersuchung 2—3 Ansätze mit bekannten Glucosaminmengen mitlaufen. Auf diese Weise sind die Ergebnisse bei Blutserum auf 4—5% reproduzierbar. F. NEUMANN

---

[1] Schweiz. Med. Woch. **76**, 638 (1945).

[2] Chem. Reviews **30**, 323 (1942).

[3] Helv. Chim. Acta **30**, 168, 892 (1947).

[4] J. pharmac. Soc. Japan **74**, 999—1001 (1954) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. refer.). Univ. Kyoto, Japan.

[5] Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **298**, 70—72 (1954). Univ. Göttingen.

[6] Biochemic. J. **27**, 1824 (1933); vgl. diese Z. **103**, 376 (1935).

Eine Methode zur Bestimmung acylierbarer OH-Gruppen in Lipoiden arbeiteten B. Baggett, L. L. Engel und L. L. Fielding[1] aus. Das Verfahren dient hauptsächlich zur Bestimmung der im Harn vorkommenden Steroide. — *Ausführung.* Einwaagen von 0,5—5 Mikroäquivalenten an acylierbarem OH werden ebenso wie Cholesterinstandards (1 mg/ml Äthanol) in kalibrierten 13 × 100 mm-Reagensgläsern zur Trockne gebracht. Dann versetzt man mit 0,2 ml frisch bereitetem Acetylierungsreagens, das durch Vermischen gleicher Volumteile von Essigsäureanhydrid und wasserfreiem Pyridin erhalten wird. In einem leeren Reagensglas stellt man den Leerversuch an. Nach Auflösung der Proben verschließt man die Reagensgläser mit Korken, die mit Aluminiumfolie umhüllt sind, erhitzt 1 Std im kochenden Wasserbad und entfernt dann Pyridin und Essigsäureanhydrid durch Einleiten eines Luftstroms im Wasserbad. Zur Vertreibung der letzten Reste dieser Stoffe verdampft man nochmal nach Zusatz von 0,1 ml Methanol. Jede acetylierte Probe löst man dann in 0,2 ml Äther, versetzt mit 1 ml alkalischem Hydroxylamin (7,5 Vol alkoholische Kalilauge [15,8 g KOH (85%ig) in 100 ml 95 Vol-%igem Äthanol] + 1 Vol Hydroxylaminhydrochloridlösung [56 g in 100 ml Wasser]) und läßt 10 min bei Raumtemperatur stehen. Dann fügt man unter Schütteln 3 ml Eisen(III)-chloridreagens (1,7 g $FeCl_3 \cdot 6\,H_2O$ in 100 ml verdünnter Salzsäure [6,5 ml konz. Salzsäure auf 100 ml verdünnt]) und, um das Ausfallen der Steroide und anderen Lipoide zu verhindern, noch 4 ml Äther zu. Etwaige lipoidlösliche Farbstoffe gehen ebenfalls in die Ätherschicht über, die nicht entfernt werden muß, da sie außerhalb des Strahlungswegs beim Photometrieren bleibt. Man photometriert 30 min nach Reagenszugabe bei 560 mμ. An sich befindet sich die Absorptionsspitze des Eisen(III)-acethydroxamsäurekomplexes bei 527 mμ. Doch ist die auf das Eisen(III)-Ion zurückführbare Absorption bei dieser Wellenlänge doppelt so groß als bei 560 mμ. Die Ablesungen für Probe und Standard werden mittels der Leermessung korrigiert. Die Harnextrakte reagieren mit alkalischem Hydroxylamin bereits unter Bildung einer mit Eisen(III)-Ion eine Farbreaktion gebenden Verbindung. Zur Analyse von Harnextrakten muß man daher die Extrakte, die Cholesterinstandards und die Blindproben allen Stufen des Bestimmungsverfahrens, beim Acetylieren beginnend, unterwerfen. H. Freytag

Für die Bestimmung von Desoxycholsäure und Cholsäure in der Galle geben E. H. Mosbach, H. J. Kalinsky, E. Halpern und F. E. Kendall[2] ein UV-spektrophotometrisches Verfahren an. Werden die beiden Säuren in 65%iger Schwefelsäure erhitzt, so treten im UV-Spektrum typische Absorptionsmaxima bei 320 bzw. 385 mμ auf. Bei 0,1 mg/5 ml ergeben sich etwa folgende Extinktionen:

	320 mμ	385 mμ
Cholsäure	0,75	0,10
Desoxycholsäure	0,18	0,95

Lithocholsäure und Dehydrocholsäure zeigen im UV-Licht fast keine Absorption. Zur Analyse wird 1 ml Galle mit 5 ml kochendem Äthanol extrahiert und filtriert; 2 ml werden mit 5 ml heißem Äthanol nachgewaschen, der Alkohol wird mit Luft vertrieben und der Rückstand mit 5 ml 5%iger Natronlauge unter Druck 3 Std verseift. Nach dem Abkühlen wird mit Salzsäure angesäuert, mit 4mal 10 ml Äther extrahiert, der Äther mit 2 ml H_2O gewaschen und mit Na_2SO_4 2—3 Std getrocknet. Man filtriert, wäscht 1mal mit Äther nach und dampft ein. Der Rückstand wird in 10 ml Aceton gelöst, davon wird 1 ml im Zentrifugenglas eingedampft und mit 5 ml 65%iger Schwefelsäure 15 min auf 60 ± 1° C erwärmt. Man mißt die Extinktion

[1] J. biol. Chemistry **213**, 87—97 (1955). Harvard-Univ. Boston, Mass. (USA).
[2] Arch. Biochem. Biophysics **51**, 402—410 (1954). Columbia-Univ., New York.

und liest die Werte aus einer Eichkurve ab. Im Gemisch wird Desoxycholsäure zu viel (100—113%), Cholsäure zu wenig (78—96%) wiedergefunden. Im Vergleich mit einer chromatographischen Methode besteht ziemlich gute Übereinstimmung.
K. Hinsberg

Zur fluorimetrischen Bestimmung von Oestrogenen im Harn verfahren J. S. McAnally und E. R. Hausman[1] wie folgt: 250 ml Harn werden mit 15%iger konz. Salzsäure angesäuert und 30 min am Rückflußkühler gekocht. Die Extraktion erfolgt in üblicher Weise mit Äther, die Ätherlösung wird mit Hydrogencarbonat gewaschen, die oestrogenen Hormone werden mit Kalilauge dem Äther entzogen, und nach dem Neutralisieren auf p_H 9 erneut mit Äther extrahiert. Die Fluorescenzmessung wird mit monochromatischem Primär- und Sekundärlicht durchgeführt (Wellenlängen: 455 mμ und 480 mμ). Unspezifische Fluorescenzen werden in einem Differenzverfahren eliminiert, indem die durch oestrogene Hormone verursachte Fluorescenz mit Nitrat-Ionen spezifisch ausgelöscht wird. Hj. Staudinger

Die Trennung von Oestrogenen in Harnextrakten durch Verteilungschromatographie wird von W. S. Bauld[2] beschrieben. — Die Anwesenheit von saurem und basischem Material in den Oestron-Oestradiol-17-β-Fraktionen pathologischer Harne macht die Anwendung von wäßrigem Alkali als stationäre Phase bei der Verteilungschromatographie wünschenswert. — *Methodisches:* Hydrolysierte Harnfraktionen werden über Celite 535 nach dessen geeigneter Vorbehandlung chromatographiert. Als Chromatographiegefäß dient beispielsweise eine Säule von 1 × 15 cm, die durch Schliff mit einem Tropftrichter verbunden ist, der einen capillaren Auslaß besitzt. Der Herstellung der stationären Phase und der organischen Phase wie auch der der Celitesäule ist besondere Sorgfalt zu widmen und wird in der Arbeit sehr eingehend beschrieben. Zur Trennung und Reinigung von Oestron und Oestradiol-17-β dient 0,8 n Natronlauge als stationäre und Benzol als mobile Phase. Nach Abfangen der Oestronfraktion (10—50 ml) wird das Elutionsmittel gewechselt (Äthylendichlorid Benzol, 3:1) und damit eine glatte Trennung vom Oestradiol erreicht. Der Einfluß der Temperatur, der Menge der stationären Phase, der Anwesenheit von Harnbegleitstoffen auf die Trennung wird besonders untersucht.
Th. Breyhan

Das Verfahren zur Bestimmung von Prothrombin in Blut nach P. A. Owren[3] wurde von H. Begtrup[4] nachgeprüft und mit der Modifikation dieser Methode von K. Aas[5] verglichen. Bei dem Originalverfahren wird zur Verhinderung der Blutgerinnung Kaliumoxalat verwendet. Da nach K. Aas[3] frisch gefälltes Calciumoxalat Prothrombin und auch Proconvertin adsorbieren soll, schlug dieser Autor die Verwendung von Natriumcitrat vor, stellte jedoch bei der Untersuchung von 147 Blutproben nach beiden Verfahren eine gute Übereinstimmung der erhaltenen Werte fest, so daß offenbar die Adsorption von Prothrombin und Proconvertin an Calciumoxalat die Prothrombinwerte nicht beeinflußt.
H. Sperlich

Eine schnelle spektrophotometrische Bestimmung von Coenzym A gelingt nach R. W. v. Korff[6] auf Grund der Beobachtung, daß Diphosphorpyridinnucleotid

[1] J. Lab. clin. Med. **44**, 647—650 (1954).

[2] Biochemic. J. **59**, 294—300 (1955). Univ. Edinburgh (Schottland).

[3] Scand. J. clin. Lab. Investigation **1**, 81 (1949); Owren, P. A., u. K. Aas: Scand. J. clin. Lab. Investigation **4**, 201 (1952).

[4] Scand. J. clin. Lab. Investigation **6**, 129—130 (1954). County Hosp., Gentofte, Kopenhagen (Dänemark).

[5] Diss. Oslo, 1952.

[6] J. biol. Chemistry **200**, 401—405 (1953). Univ. Madison, Wisc. (USA).

(DPN) durch α-Ketoglutarsäure in Gegenwart einer Oxydase und einer Deacylase, die von Coenzym A abhängig ist, reduziert wird. Die Reaktionsgleichung ist folgende:

$$\alpha\text{ Ketoglutars.} + \text{CoĀ} + \text{DPN} + \text{Oxydase} \rightarrow \text{Succinyl CoĀ} + [\text{DPN}]\text{H} + \text{CO}_2 + \text{H}^+$$

$$\text{Succinyl CoĀ} \xrightarrow[\text{H}_2\text{O}]{\text{Deacylase}} \text{Bernsteinsäure} + \text{CoĀ}.$$

Die Ketoglutarsäureoxydase wird nach Sanadi u. Mitarb.[1] hergestellt, Succinyl CoA Deacylase nach Gergely[2] u. Mitarb. Nach der Dialyse des durch Ammoniumsulfat fraktioniert gewonnenen Niederschlages wird die Deacylase an Calciumphosphat-Gel adsorbiert und das Gel mit 0,1 m Phosphatpuffer p_H 7,4 eluiert. Man verwendet das halbe Volumen Pufferlösung von der ursprünglichen Enzymlösung. Das Eluat wird 3 Std gegen 0,2 m Phosphatpuffer dialysiert und ist bei —10° C mehrere Monate haltbar. α-Ketoglutarsäure muß aus Benzol umkristallisiert werden, DPN mit 50% Reinheit ist in 1%iger Lösung neutralisiert auf p_H 7 brauchbar. Glycin wird als molare Lösung mit KOH auf p_H 7 neutralisiert gebraucht. D-l-Cystein (0,1 m) wird ebenfalls mit KOH auf p_H 7 eingestellt. Man nimmt je 0,1 ml von Cystein, CoA, Glycin, Ketoglutarsäure, Deacylase und 0,01 ml Oxydase, und füllt mit Wasser auf 2,9 ml auf. Die CoA-Lösung betrifft entweder die zu prüfende Lösung oder einen entsprechend eingestellten Standard, der möglichst der Versuchslösung entsprechen soll. Nachdem die Mischungen 5 min bei 30°C temperiert sind, wird ihre Extinktion bei 340 mμ im Beckman-Spektrophotometer gemessen. Sie soll zwischen 0,17 und 0,25 liegen. Die Reaktion wird durch Zusatz von 0,1 ml DPN in Gang gesetzt und die Abnahme der Extinktion in jeder Minute während 3—5 min gemessen. Aus der Abnahme der Extinktion im Vergleich mit einer Standardlösung kann der CoA-Gehalt berechnet werden. Die Abnahme soll nicht mehr als 0,05 bis 0,1 je Minute betragen. Die Eichkurve entspricht einer logarithmischen Funktion und muß gesondert angelegt werden. Es wurde gefunden, daß käufliches Glutathion eine geringe Menge CoA enthält, die 0,03—0,2% ausmachen kann. K. Hinsberg

Die Bestimmung von Vollblut in homogenisiertem Gewebe gründen M. W. Gordon und J. I. Nurnberger[3] auf die Absorptionsdifferenz von Hämoglobin und Kohlenoxydhämoglobin. — *Ausführung.* Man homogenisiert eine gewogene Menge des Gewebes und füllt im Meßkolben zur Marke auf. Zu einer passenden Abnahme setzt man eine Prise Saponin, mischt und zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wird in 2 Teile geteilt, von denen man jede mit 1 Tr. Caprylalkohol als Antischaummittel versetzt. Dann leitet man 5 min lang mit gleicher Geschwindigkeit durch die eine Lösung Leuchtgas, durch die andere Luft, mißt anschließend die Extinktionen bei 562 mμ und notiert den Unterschied (Δ). Bei reinem verdünntem Blut beträgt der Unterschied in den $E^{1\%}_{1\,cm}$-Werten von mit CO und mit Luft behandelter Probe 0,260 bei 562 mμ. Man findet also Prozente Blut im untersuchten Gewebe $= \Delta \cdot V/0{,}26\,G$ (V ist das Volumen, zu dem verdünnt wurde, G die Einwaage). A. Kurtenacker

Über Probleme der Harnuntersuchung wie Störung des Urobilinogennachweises durch Sulfonamide und den chemischen Colibakteriennachweis berichtet K. Borgmann[4]. — Bei Sulfonamidmedikation tritt bei der Prüfung auf Urobilinogen

[1] Sanadi, D. R., J. W. Littlefield und R. M. Bock: J. biol. Chemistry **197**, 851 (1952).

[2] Gergely, J., P. Hele und C. V. Ramakrishnan: J. biol. Chemistsy **198**, 323 (1952).

[3] J. Histochem. Cytochem. **3**, 130—133 (1955). Inst. of Living, Hartford, Conn.

[4] Dtsch. Apotheker-Ztg. **1955**, 263—264. Hammer-Apoth. Pforzheim.

mit Ehrlichs Reagens eine citronengelbe Färbung auf, welche die Rosafärbung des aus Urobilinogen gebildeten Farbstoffs überdeckt. — *Trennung des Urobilinogens von den störenden Sulfonamiden.* 5—10 ml Harn werden mit verdünnter Salzsäure angesäuert und mit dem gleichen Volumen Petroläther kräftig geschüttelt. Die Petrolätherschicht wird nach Abtrennung von der wäßrig-salzsauren Schicht mit verdünnter Alkalilauge gewaschen. Etwa vorhandenes Urobilinogen geht hierbei in die wäßrige Phase über und kann jetzt in bekannter Weise nachgewiesen werden. Eine Diazotierung der Sulfonamide, Kupplung mit β-Naphthol und Untersuchung des Filtrates auf Urobilinogen hat sich nicht bewährt. — *Chemischer Nachweis von Coli.* Trotz mikroskopisch nachgewiesener Anwesenheit von Colistäbchen im Harn fällt in vielen Fällen die Reaktion nach Griess-Ilosvay negativ aus, die auf der Bildung eines Azofarbstoffes beruht, der mittels des bei der Anwesenheit von Colibakterien aus Nitrat gebildeten Nitrits und dem Reagens entsteht. In diesen Fällen wird die Methode dahin modifiziert, daß entgegen der eigentlichen Vorschrift der Harn tropfenweise zu der sich im Reagensglas befindenden Reagenslösung zugesetzt wird. Dann tritt bei Anwesenheit von Coli mit Sicherheit die bekannte Rosafärbung auf. Th. Breyhan

Zur Bestimmung von Histamin empfehlen R. W. Schayer, Y. Kobayashi und R. L. Smiley[1] die Überführung in radioaktives, mit ^{131}J markiertes Derivat von *p-Jodphenylsulfonylchlorid* (*Pipsylchlorid*). Die störenden Stoffe werden durch wiederholtes Umkristallisieren entfernt. Die Abscheidung von Histamin mit Pipsylchlorid ist auch in Mikrogrammengen praktisch quantitativ. — *Bestimmung im Gewebe.* Gewebe wird mit Sand und Trichloressigsäure + 1 Tr. 0,1 n Salzsäure/g nassen Gewebes verrieben. Nach 30 min wird der Extrakt in einen Meßzylinder mit Glasstopfen filtriert und der Rückstand dreimal mit wenig 5%iger Trichloressigsäure extrahiert, die durch Ätherextraktion wieder entfernt wird. Der Äther wird mit N_2 abgeblasen und das Volumen festgestellt. (0,2 ml Extrakt entsprechen 0,10 g nassem Gewebe.) Standards werden durch Zufügung einer bekannten Histaminmenge zu 0,20 ml Gewebeextrakt hergestellt. In mit Glasstopfen versehenen Proberöhrchen werden 0,20 ml Gewebeextrakt, 0,10 ml Wasser (bzw. 0,10 ml Histaminlösung für Standards) und 5 mg ^{131}J-Pipsylchlorid in 0,30 ml reinem Dioxan gelöst, unter Stickstoff mit Natriumhydrogencarbonatlösung (90 mg/ml) versetzt, verschlossen und sanft geschüttelt. Nach 30 minutigem Stehen bei Zimmertemperatur wird auf einem Wasserbad 15 min auf 50° C erwärmt, um die Hydrolyse von überschüssigem Pipsylchlorid zu beschleunigen. Hierauf versetzt man mit 3 ml Wasser und extrahiert jede Probe (bzw. jeden Standard) 5mal mit je 7 ml Äther. Die Ätherschicht wird in einen 125 ml-Erlenmeyer übergeführt, in dem 500 mg des Träger-Pipsylhistamins in Aceton gelöst sind. Die Lösung wird eingeengt, auf 30 ml mit Aceton verdünnt, erwärmt, mit 0,7 g Norit behandelt, filtriert, gewaschen und auf etwa 40 ml mit Aceton gebracht. Nach Zugabe von 15 ml warmem Wasser wird gemischt und der Kristallisation überlassen. Pipsylhistamin wird abfiltriert und mit wenig Methanol gewaschen. Es wird aus 10—15 ml Aceton + 15—20 ml Äthanol unter Zusatz von 0,7 g Darco umkristallisiert, die dritte Kristallisation erfolgt aus der Lösung in 20 ml Aceton auf Zusatz von 15 ml Toluol + 0,7 g Nuchar. Das vierte, fünfte und sechste Mal wird wie das erste, zweite und dritte Mal umkristallisiert. Zur Zählung werden die Proben gewogen (48—52 mg), ausgebreitet, gezählt, wieder verteilt und wieder gezählt. Nach Abzug des Untergrundes korrigiert man auf 50 mg. Die Anzahl Impulse ist direkt proportional dem Histamingehalt der Proben bzw. der Standards. Hildegard Telschow

[1] J. biol. Chemistry **212**, 593—598 (1955). Northw. Univ. Chicaga, Ill. (USA).

Für die colorimetrische Bestimmung von Pyramidon (I) im Serum haben R. Haslinger und W. Strunz[1] die Methode von R. Pulver[2] modifiziert. Da die dort angegebene Farbreaktion nicht nur von I, sondern auch von 4-Aminoantipyrin gegeben wird, haben Verf. diese Fehlerquelle dadurch ausgeschaltet, daß das im Serum enthaltene 4-Aminoantipyrin mit Eisessig zu 4-Acetylaminoantipyrin acetyliert wird. Durch die Behandlung mit Eisessig werden außerdem die hohen Leerwerte, die auf färbende Komponenten im Serum zurückzuführen sind, wesentlich herabgesetzt. — *Ausführung.* 2 ml Serum, 1 ml Acetatpufferlösung (118 g Natriumacetat, 56,5 ml Eisessig, in Wasser zu 1000 ml gelöst) und 10 ml Wasser werden 5 min im Wasserbad erhitzt und dann filtriert. Man wäscht den Rückstand 2 mal mit je 2 ml heißem Wasser nach, versetzt das Filtrat mit 1 ml 2 n Natronlauge und schüttelt es 2 mal 2 min mit je 20 ml Äther aus. Dann dampft man den Äther bei 50° C ab, nimmt den noch warmen Rückstand in 4 Tr. Eisessig auf, dampft nochmals zur Trockne ein, nimmt mit 2 ml 10%iger Natriumacetatlösung auf und versetzt nach dem Abkühlen mit 0,5 ml Azoreagens (2 ml 1%ige p-Nitranilinlösung in n-Salzsäure werden mit 2 ml einer 1%igen Natriumnitritlösung diazotiert. Nach 2 min setzt man 2 ml 1%ige Sulfaminsäurelösung zu, läßt 20 min stehen und verdünnt mit 14 ml Wasser). Nach 10 min gibt man die Lösung in einen Schütteltrichter, wäscht das Kölbchen mit 2 ml 2 n Salzsäure und 2 ml Wasser nach und schüttelt 2 min lang mit 10 ml Chloroform aus. Die abgetrennte, mit wenig Natriumsulfat getrocknete Chloroformlösung wird in einer 2 cm-Küvette mit Filter S 43 im Stufenphotometer gemessen. Das Beersche Gesetz gilt für den Bereich zwischen 1 und 10 mg-%. Der mittlere Fehler betrug ± 4%. H. Sperlich

Zum Nachweis und zur Identifizierung einiger Stoffwechselprodukte von Isonicotinsäurehydrazid in menschlichem Urin verwenden W. F. J. Cuthbertson, D. M. Ireland und W. Wolff[3] eine chromatographische und eine elektrophoretische Methode. Die *chromatographische Methode* wird an Whatman-Papier Nr. 1 oder 4 bei Raumtemperatur im absteigenden Chromatogramm ausgeführt, wobei die Flüssigkeitsfront 36 cm wandert. Die R_f-Werte der verschiedenen als Kontrollsubstanzen verwendeten Stoffe unterscheiden sich nicht sehr wesentlich voneinander, gleichgültig, ob man wassergesättigtes Butanol oder Äthylmethylketon—Eisessig—Wasser (49:1:50) oder n-Propanol—Wasser (4:1) verwendet. Genauere Angaben werden nicht gemacht. Bei der *Papier-Ionophorese* in Phosphatpuffer bei p_H 6,5 wandern die sauren Verbindungen zur Anode, während die basischen Verbindungen fast an der Auftragsstelle liegenbleiben. In Phthalatpuffer bei p_H 4 wandern die basischen Verbindungen zur Kathode und die sauren bleiben liegen. Zur Entwicklung der Chromatogramme kann man Bromcyan, Pikrylchlorid oder Fluordinitrobenzol, p-Aminoacetophenon und 3-Methyl-1-phenylpyrazolon verwenden. — *Arbeitsweise.* Harnproben von Patienten, die mit Isoniacid behandelt sind, werden in Mengen von 5 ml gefriergetrocknet, der Rückstand in 0,5 ml Wasser suspendiert, zentrifugiert und von der überstehenden Flüssigkeit 5 mal 10 µl auf auf dieselbe Stelle aufgetragen, nachdem der vorhandene Tropfen jeweils getrocknet ist. In gleicher Weise werden die entsprechenden Nicotinsäurederivate, Harn von unbehandelten Patienten und Kontrollharne mit Zusätzen aufgetragen. Das Chromatogramm wird mit n-Butanol-Wasser entwickelt und die Flecken werden angefärbt. Isoniacid wurde nur in dem Harn von 6 Patienten gefunden. Um *Isonicotinsäureglycin* (synthetisch hergestellt) nachweisen zu können, wird der auf p_H 2,5 mit Salzsäure angesäuerte Harn 16 Std kontinuierlich mit Äther extrahiert. Die zu-

[1] Arzneimittel-Forsch. **5**, 61—62 (1955). Univ. Wien.
[2] Arch. int. Pharmacodynam. Thérap. (Gent) **1950**, 81.
[3] Biochemic. J. **55**, 669—671 (1953). Glaxo Lab. Ltd., Greenford, Middles. (Engl.).

rückbleibende wäßrige Lösung wird mit Natronlauge neutralisiert, im Vakuum auf 10 ml eingedampft und 1 ml als dünner Strich zur Chromatographie aufgetragen. Der Streifen, der das Isonicotinsäureglycin enthält, wird ausgeschnitten, mit Wasser extrahiert, die wäßrigen Extrakte im Vakuum auf 1 ml eingedampft und in Phosphatpuffer bei p_H 6,5 elektrophoresiert. Ein Teil des Eluates wird bei 100° C 3 Std in 5 n Salzsäure hydrolysiert und nach Neutralisation ebenfalls elektrophoresiert. Hierbei wird Glycin mit der Ninhydrinreaktion nachgewiesen. Es zeigt sich, daß weniger als 20% des verabfolgten Isoniacids in 24 Std ausgeschieden werden.

K. HINSBERG

Ein colorimetrisches Verfahren zur Bestimmung von Xanthindehydrogenase(I) in Rattenleber wird von G. G. VILLELA[1] angegeben. Es beruht auf der Reduktion des farblosen Triphenyltetrazoliumchlorids (TTC) durch I zu einem roten Formazan, das in Toluol gelöst und colorimetriert wird. — *Ausführung.* Die vom Blut befreite Leber wird sofort mit kaltem dest. Wasser homogenisiert und soweit verdünnt, daß 1 ml 0,166 g Organbrei enthält. Man filtriert das Homogenisat durch Leinen und hält das Filtrat unter Umrühren 40 min auf 37° C (Wasserbad). Dann pipettiert man in ein THUMBERG-Röhrchen 2 ml 0,033 m Pyrophosphatpufferlösung (p_H 8,6) und 0,5—1,0 ml Leberhomogenisat und gibt 0,1 ml 0,05 m Xanthinlösung in 0,05 n Natronlauge und 0,3 ml 0,1%ige TTC-Lösung in den seitlichen Arm, kippt den Apparat und mischt die Flüssigkeiten. Nach 30 min versetzt man mit 7,5 ml Essigsäure und 3 ml Toluol, schüttelt kräftig und trennt die Toluolphase durch Zentrifugieren ab. Dann colorimetriert man bei 480 mμ gegen einen Leerwert ohne Xanthin. Das Ergebnis wird ausgedrückt in Mikrogramm Formazan, die von 1 mg Organtrockensubstanz gebildet werden. Normale Ratten von 90—160 g Gewicht gaben Werte von 0,91—1,86.

H. SPERLICH

Zur papierchromatographischen Bestimmung von Nucleinsäurekomponenten geben K. MAKINO und K. MATSUZAKI[2] eine Verbesserung der Methode von R. MARKHAM und J. D. SMITH[3] an, wobei der durch Verwendung einer Niedervolt-Quecksilberlampe von 100 V und 15 W die Nucleinsäurekomponenten auf dem Chromatogramm direkt sichtbar werden und die photographische Aufnahme wegfallen kann. Die untere Grenze der Nachweisbarkeit liegt je nach Verbindung zwischen 1 und 5 μg. Für eine Reihe von Nucleinsäurekomponenten werden die R_f-Werte angegeben.

A. KURTENACKER

Eine Methode zur Bestimmung der Nucleotidfolge in Polyribonucleotiden gibt P. R. WHITFELD[4] an. Sie bedient sich zur Dephosphorylierung eines endständigen Nucleotides bei Polyribonucleotiden einer Phosphomonoesterase und dann wird die freie angrenzende Hydroxylgruppe mit Perjodat oxydiert. Nach Bebrütung bei p_H 10 spaltet der oxydierte Nucleosidrest ab und es bleibt eine um ein Nucleotid ärmere Verbindung zurück. Diese Operation kann bis zum Zurückbleiben eines Restes wiederholt werden. (Anwendung hauptsächlich an dem Mosaik-Virus[5] der gelben Rübe.) — *Arbeitsweise.* 0,2 g Ribonucleinsäure (RNS) in 10 ml Wasser werden bei p_H 7 24 Std bei 55° C mit 1,7 mg Pankreasribonuclease verdaut und gegen 3 × 100 ml Wasser dialysiert, im Vakuum eingedampft und nach

---

[1] Rev. brasil. Biol. **14**, 455—458 (1954) [Portugiesisch]. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro (Brasilien).

[2] J. Biochemistry (Tokyo) **41**, 457—462 (1954).

[3] Nature (London) **163**, 250 (1949); vgl. diese Z. **131**, 287 (1950).

[4] Biochemic. J. **58**, 390—396 (1954). Inst. Technol., Pasadena, Calif. (USA).

[5] MARKHAM, R., and J. D. SMITH: Biochemic. J. **52**, 558 (1952).

R. Markham und J. D. Smith[1] papierchromatographiert. Die ribonucleaseresistenten Dinucleotide werden eluiert und bei p_H 3,5 elektrophoretisch als Adenylylcitidylsäure, Adenylyluridylsäure, Guanylylcitidylsäure und Guanylyluridylsäure isoliert (2—4 mg). (Mit Ionenaustauschern wurden Trinucleotide und größere Mengen von Dinucleotiden gewonnen und die Fraktionen papierchromatographisch auf Reinheit geprüft.) Die Dinucleotide werden dann 90 min bei 37° C mit 0,2 ml Prostataphosphomonoesterase bebrütet und das dephosphorylierte Produkt durch Papierchromatographie isoliert. Nach Oxydation mit 0,1 m Natriumjodatlösung (30 min bei 20° C) wird wieder chromatographiert, das Oxydationsprodukt eluiert, auf p_H 10 gebracht und bei 37° C (18 Std) aufbewahrt. Nach erneuter Chromatographie zeigen sich zwei Produkte, die sich nach Weiterverarbeitung als die entsprechenden Bestandteile des Dinucleotides identifizieren lassen. Trinucleotide werden ähnlich aufgearbeitet. Hildegard Telschow

5. Auf gerichtliche Chemie bezügliche Methoden

Zur Alkoholbestimmung in Leichenteilen vergleichen R. Bonnichsen, F. Halstrøm, K. O. Møller und H. Theorell[2] die Methode nach E. Widmark[3] mit der nach S. Zeisel und R. Fanto[4] (die genau beschrieben wird) in der Apparatur nach M. J. Stritar[5] und einer enzymatischen Alkoholbestimmung, die auf der durch Alkoholhydrogenase katalysierten Reaktion Alkohol + Diphosphopyridinnucleotid $\rightleftharpoons$ Acetaldehyd + reduziertes Diphosphopyridinnucleotid beruht. — Zur *Vorbereitung des Untersuchungsmaterials* für die Zeisel-Fanto-Methode versetzt man 20—40 g Blut oder die entsprechende Menge von zerkleinertem Material mit der doppelten Menge an gesättigter Pikrinsäurelösung. Man destilliert bis 150° C (gewöhnlich nur bis 125—130° C) etwa die Hälfte des Volumens ab und destilliert das gewonnene Destillat nochmals unter Zusatz von 5—10 ml 2 n Schwefelsäure. Nach erneuter Destillation der so gewonnenen Flüssigkeit (Hälfte des Volumens nach der ersten Destillation) unter Zusatz von 5 ml 2 n Natronlauge verwendet man das letzte Destillat als Ausgangsstoff für die Zeisel-Fantomethode. — Bei Untersuchung von Urin unterbleibt die Behandlung und Destillation mit Pikrinsäure. — Als Ergebnis findet man, daß die Zeisel-Fanto-Methode und die enzymatische Alkoholbestimmung in post mortem-Material (auch verwesend) gut übereinstimmende Werte ergeben, von denen die Ergebnisse der Widmark-Methode abweichen, wenn später als 48 Std nach dem Tode untersucht wird. H. Kurtenacker

Die papierchromatographische Methode zum Nachweis von Alkaloiden und synthetischen basischen Suchtmitteln im Harn nach H. Jatzkewitz[6] wurde von E. Vidic[7] nachgeprüft und erweitert, um die Spezifität der Nachweise zu erhöhen. Verf. schlägt vor, in jedem Fall zwei Parallelchromatogramme anzusetzen und gibt dazu ein weiteres Lösungsmittelsystem sowie ein zusätzliches Sprühreagens an. Außerdem empfiehlt er, das papierchromatographische Verfahren mit den bereits früher von ihm veröffentlichten chemischen Nachweismethoden zu kom-

[1] Biochemic. J. **52**, 552 (1952).

[2] Acta Pharmacol. (Kopenhagen) **10**, 101—112 (1954); Univ. Kopenhagen u. Med. Nobel Inst. Stockholm.

[3] Biochem. Z. **131**, 473 (1922); vgl. diese Z. **80**, 402 (1930).

[4] Diese Z. **42**, 549 (1903).

[5] Diese Z. **42**, 579 (1903).

[6] Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **292**, 94 (1953); vgl. diese Z. **146**, 464 (1955).

[7] Arzneimittel-Forsch. **5**, 291—295 (1955). Freie Univ. Berlin.

binieren[1]. — *Arbeitsweise.* Der Urin (meist 20 ml) wird mit $^1/_4$ Vol (5 ml) Pufferlösung von p_H 9,1 versetzt (10%ige Lösung eines Gemisches von 1,64 g wasserfreiem Na_2CO_3 und 5,40 g $NaHCO_3$). Dann schüttelt man mit einem der wäßrigen Phase gleichen Vol Amylacetat aus, verteilt den Amylacetatauszug gleichmäßig auf zwei Spitzröhrchen, und schüttelt eine Hälfte mit 0,06—0,08 ml 1 n Salzsäure, die andere Hälfte mit ebensoviel 15%iger Essigsäure aus. Man chromatographiert den salzsauren Auszug mit dem von H. Jatzkewitz angegebenen Lösungsmittel n-Butanol—Ameisensäure—Wasser (12:1:7), den essigsauren Auszug mit dem neuentwickelten System Dichloräthan—Eisessig—Wasser (20:8:2). Als Sprühreagentien dienen verdünntes Dragendorff-Reagens, diazotierte Sulfanilsäure sowie ein Reagens bestehend aus 0,1%iger Bromkresolgrünlösung-Phosphatpufferlösung von p_H 5,6 (48,0 g $NaH_2PO_4 \cdot 2\,H_2O$ + 12,0 g $Na_2HPO_4 \cdot 12\,H_2O$ in 500 ml Wasser)-Äthanol (1:1:2). Das letzte Reagens eignet sich besonders für den Nachweis von *Pervitin*, *Preludin* (2-Phenyl-3-methyl-tetrahydro-1,4-oxazin), *Metrotonin* (N-Dimethylphenylisopropylamin-hydrochlorid) sowie von *Dolantin*, *Polamidon*, *Cliradon* und *Dromoran*. Die vom Verf. untersuchten Arzneistoffe erscheinen auf den Chromatogrammen in folgender Reihenfolge mit den nachstehenden R_f-Werten: I. Butanol-Ameisensäure-Wasser: *Nicotin* 0,06—0,08, *Morphin* 0,22—0,25, *Dilaudid*0,25—0,28, *Eucodal* 0,28—0,32, *Suprifen*, *Pyramidon* 0,33—0,40, *Codein* 0,32—0,36, *Dicodid* 0,33 bis 0,39, *Cibalgin* 0,39—0,43, *Chinin* 0,37—0,48, *Acedicon* 0,42—0,46, *Strychnin* 0,48—0,52, *Atropin* 0,51—0,55, *Metrotonin* 0,56—0,61, *Cliradon* 0,56—0,63, *Preludin* 0,59—0,64, *Pervitin* 0,63—0,68, *Dolantin* 0,66—0,70, *Ritalin* 0,69—0,73, *Dromoran* 0,69—0,74, *Ticarda* (*renal*) 0,71—0,77, *Polamidon* 0,77—0,80, *Ticarda* (*Modell*) 0,80—0,84. II. Dichloräthan-Eisessig-Wasser: *Suprifen* 0,04—0,06, *Morphin* 0,08—0,09, *Dilaudid* 0,18—0,20, *Nicotin* 0,23—0,27, *Cliradon* 0,30—0,34, *Atropin* 0,33—0,36, *Codein* 0,35—0,38, *Dromoran* 0,36—0,40, *Eucodal* 0,38—0,41, *Preludin*, *Pervitin* 0,53—0,57, *Chinin* 0,54—0,59, *Metrotonin* 0,58—0,61, *Dicodid* 0,58 bis 0,63, *Acedicon* 0,61—0,64, *Ritalin* 0,66—0,70, *Strychnin* 0,69—0,72, *Ticarda* (*renal*) 0,68—0,72, *Dolantin*, *Polamidon* 0,72—0,78, *Ticarda* (*Modell*) 0,78—0,83. — Bemerkenswert ist, daß renal ausgeschiedenes Ticarda niedrigere R_f-Werte ergibt als zu Urin zugesetztes und daß die bei den Modellversuchen erhaltenen Ticardaflecken mit dem Diazoreagens keine Färbung geben. Weitere Einzelheiten der Arbeit mögen im Original eingesehen werden. H. Sperlich

Für den Nachweis und die Bestimmung von E 605[2] bzw. von Dimethylparathion in der gerichtlichen Chemie empfehlen J. Derkosch und F.X. Mayer[3] die Abtrennung der Ester mit Wasserdampfdestillation, Ausäthern des Destillates, Lösen des Ätherrückstandes in Äthanol und Aufnahme des UV-Absorptionsspektrums. Für die Eliminierung der Störstoffe muß eine Bestimmung von an E 605 freiem, analogem Material (Mageninhalt, Blut) vorgenommen werden. Die Unterscheidung der beiden Ester gelingt nicht auf Grund des UV-Spektrums, leicht jedoch mit Hilfe der UR-Spektren. Die Nachweisempfindlichkeit ist jedoch im UV größer. Die entsprechenden Spektren sind im Original abgebildet. Bei der Wasserdampfdestillation treten so hohe Verluste an Parathion auf, daß bei einer etwaigen quantitativen Auswertung nur von unteren Grenzwerten die Rede sein kann. W. Fischer

---

[1] Vidic, E.: Arzneimittel-Forsch. **3**, 34, 428 (1953); vgl. diese Z. **141**, 306 (1954); **148**, 453 (1955/56); Naunyn-Schmiedebergs Arch. exper. Pathol. Pharmakol. **212**, 339 (1951); vgl. diese Z. **135**, 454 (1952); Klin. Wschr. **30**, 223 (1952); diese Z. **135**, 81 (1952).

[2] Vgl. auch J. Derkosch, H. Jansch, P. Leutner und F. X. Mayer: Mh. Chem. **85**, 684 (1954); vgl. diese Z. **148**, 399 (1955/56).

[3] Mikrochim. Acta (Wien) **1955**, 495—504. Univ. Wien.